

UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DEN EXTRAHEPATISCHEN STOFFWECHSEL
VON TESTOSTERON BEIM MENSCHEN

Inkubationen von Skelettmuskulatur,
Niere, Lunge und Magenschleimhaut
mit 4-¹⁴C-Testosteron und
1,2-³H- Δ^4 -Androstendion

HEINZ ZWERINA

—
1981
—

Dissertations- und Fotodruck ANNELIESE SCHUBERT
Corneliusstraße 21 · 8000 München 5 · Telefon 2014774

Aus der Medizinischen Klinik II der Universität München,

Klinikum Großhadern

Direktor: Prof. Dr.med. G. Paumgartner

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EXTRAHEPATISCHEN STOFFWECHSEL
VON TESTOSTERON BEIM MENSCHEN

Inkubationen von Skelettmuskulatur,
Niere, Lunge und Magenschleimhaut
mit 4-¹⁴C-Testosteron und
1,2-³H- Δ^4 -Androstendion

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von:

Heinz Z w e r i n a
aus Klingenmünster

1 9 8 1

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. D. ENGELHARDT
Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. PAUMGARTNER
Dekan: Prof. Dr. W. SPANN

Tag der mündlichen Prüfung: 3.12.1981



MEINER FRAU UND MEINEN ELTERN IN DANKBARKEIT GEWIDMET

I. Einleitung	1
II. Die Bedeutung der Dankbarkeit	2
III. Die Dankbarkeit als Tugend	3
IV. Die Dankbarkeit als Pflicht	4
V. Die Dankbarkeit als Kunst	5
VI. Die Dankbarkeit als Wissenschaft	6
VII. Die Dankbarkeit als Religion	7
VIII. Die Dankbarkeit als Philosophie	8
IX. Die Dankbarkeit als Politik	9
X. Die Dankbarkeit als Ethik	10
XI. Die Dankbarkeit als Ästhetik	11
XII. Die Dankbarkeit als Pädagogik	12
XIII. Die Dankbarkeit als Medizin	13
XIV. Die Dankbarkeit als Jurisprudenz	14
XV. Die Dankbarkeit als Historie	15
XVI. Die Dankbarkeit als Geographie	16
XVII. Die Dankbarkeit als Meteorologie	17
XVIII. Die Dankbarkeit als Zoologie	18
XIX. Die Dankbarkeit als Botanik	19
XX. Die Dankbarkeit als Mineralogie	20
XXI. Die Dankbarkeit als Astronomie	21
XXII. Die Dankbarkeit als Kosmologie	22
XXIII. Die Dankbarkeit als Theologie	23
XXIV. Die Dankbarkeit als Philosophie	24
XXV. Die Dankbarkeit als Wissenschaft	25
XXVI. Die Dankbarkeit als Kunst	26
XXVII. Die Dankbarkeit als Religion	27
XXVIII. Die Dankbarkeit als Philosophie	28
XXIX. Die Dankbarkeit als Politik	29
XXX. Die Dankbarkeit als Ethik	30
XXXI. Die Dankbarkeit als Ästhetik	31
XXXII. Die Dankbarkeit als Pädagogik	32
XXXIII. Die Dankbarkeit als Medizin	33
XXXIV. Die Dankbarkeit als Jurisprudenz	34
XXXV. Die Dankbarkeit als Historie	35
XXXVI. Die Dankbarkeit als Geographie	36
XXXVII. Die Dankbarkeit als Meteorologie	37
XXXVIII. Die Dankbarkeit als Zoologie	38
XXXIX. Die Dankbarkeit als Botanik	39
XL. Die Dankbarkeit als Mineralogie	40
XLI. Die Dankbarkeit als Astronomie	41
XLII. Die Dankbarkeit als Kosmologie	42
XLIII. Die Dankbarkeit als Theologie	43
XLIV. Die Dankbarkeit als Philosophie	44
XLV. Die Dankbarkeit als Wissenschaft	45
XLVI. Die Dankbarkeit als Kunst	46
XLVII. Die Dankbarkeit als Religion	47
XLVIII. Die Dankbarkeit als Philosophie	48
XLIX. Die Dankbarkeit als Politik	49
L. Die Dankbarkeit als Ethik	50
LXI. Die Dankbarkeit als Ästhetik	51
LXII. Die Dankbarkeit als Pädagogik	52
LXIII. Die Dankbarkeit als Medizin	53
LXIV. Die Dankbarkeit als Jurisprudenz	54
LXV. Die Dankbarkeit als Historie	55
LXVI. Die Dankbarkeit als Geographie	56
LXVII. Die Dankbarkeit als Meteorologie	57
LXVIII. Die Dankbarkeit als Zoologie	58
LXIX. Die Dankbarkeit als Botanik	59
LXX. Die Dankbarkeit als Mineralogie	60
LXXI. Die Dankbarkeit als Astronomie	61
LXXII. Die Dankbarkeit als Kosmologie	62
LXXIII. Die Dankbarkeit als Theologie	63
LXXIV. Die Dankbarkeit als Philosophie	64
LXXV. Die Dankbarkeit als Wissenschaft	65
LXXVI. Die Dankbarkeit als Kunst	66
LXXVII. Die Dankbarkeit als Religion	67
LXXVIII. Die Dankbarkeit als Philosophie	68
LXXIX. Die Dankbarkeit als Politik	69
LXXX. Die Dankbarkeit als Ethik	70
LXXXI. Die Dankbarkeit als Ästhetik	71
LXXXII. Die Dankbarkeit als Pädagogik	72
LXXXIII. Die Dankbarkeit als Medizin	73
LXXXIV. Die Dankbarkeit als Jurisprudenz	74
LXXXV. Die Dankbarkeit als Historie	75
LXXXVI. Die Dankbarkeit als Geographie	76
LXXXVII. Die Dankbarkeit als Meteorologie	77
LXXXVIII. Die Dankbarkeit als Zoologie	78
LXXXIX. Die Dankbarkeit als Botanik	79
LXXXX. Die Dankbarkeit als Mineralogie	80
LXXXXI. Die Dankbarkeit als Astronomie	81
LXXXXII. Die Dankbarkeit als Kosmologie	82
LXXXXIII. Die Dankbarkeit als Theologie	83
LXXXXIV. Die Dankbarkeit als Philosophie	84
LXXXXV. Die Dankbarkeit als Wissenschaft	85
LXXXXVI. Die Dankbarkeit als Kunst	86
LXXXXVII. Die Dankbarkeit als Religion	87
LXXXXVIII. Die Dankbarkeit als Philosophie	88
LXXXXIX. Die Dankbarkeit als Politik	89
LXXXXX. Die Dankbarkeit als Ethik	90
LXXXXXI. Die Dankbarkeit als Ästhetik	91
LXXXXXII. Die Dankbarkeit als Pädagogik	92
LXXXXXIII. Die Dankbarkeit als Medizin	93
LXXXXXIV. Die Dankbarkeit als Jurisprudenz	94
LXXXXXV. Die Dankbarkeit als Historie	95
LXXXXXVI. Die Dankbarkeit als Geographie	96
LXXXXXVII. Die Dankbarkeit als Meteorologie	97
LXXXXXVIII. Die Dankbarkeit als Zoologie	98
LXXXXXIX. Die Dankbarkeit als Botanik	99
LXXXXXX. Die Dankbarkeit als Mineralogie	100



Digitized by the Internet Archive
in 2026

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	Seite
A <u>Einleitung</u>	1
B <u>Fragestellung</u>	4
C <u>Versuchsteil</u>	5
I. Methodisches Vorgehen	5
II. Steroidreinsubstanzen	5
III. Reagenzien	7
IV. Puffer-, Inkubations- u. Reaktionslösungen	9
V. Apparate	10
VI. Arbeitsvorschrift	11
1) Gewinnung der Gewebe	11
2) Inkubation der Gewebe	11
3) Extraktion des Inkubats u. Reinigung des Extrakts	12
4) Gaschromatographie	13
5) Radioaktivitätsmessung	14
6) Berechnung	16
VII. Besprechung der Methoden	16
1) Adsorptionsextraktion von Testosteron Δ^4 -Androstendion und deren Metaboliten	16
2) Gaschromatographie von Testosteron, Δ^4 -Androstendion und deren Metaboliten	17
3) Beständigkeit der verwendeten radio- aktiv markierten Steroide	23
4) Verluste an Radioaktivität während der Aufarbeitung	24
D <u>Ergebnisse</u>	27
I. Inkubation von (4- 14 C)-Testosteron und (1,2- 3 H)- Δ^4 -Androstendion mit Muskelgewebe	27
II. Inkubation von (4- 14 C)-Testosteron und (1,2- 3 H)- Δ^4 -Androstendion mit Nierengewebe	33
III. Inkubation von (4- 14 C)-Testosteron und (1,2- 3 H)- Δ^4 -Androstendion mit Lungengewebe	39
IV. Inkubation von (4- 14 C)-Testosteron und (1,2- 3 H)- Δ^4 -Androstendion mit Magenschleimhaut	46
E <u>Besprechung der Ergebnisse</u>	56
F <u>Zusammenfassung</u>	59
G <u>Literaturverzeichnis</u>	60

verwendete Trivialnamen und Abkürzungen

5 α -Androstan-3 α , 17 β -diol	= Androstandiol = 5 α , 3 α -Adiol
5 β -Androstan-3 α , 17 β -diol	= 5 β -Androstandiol = 5 β , 3 α -Adiol
5 α -Androstan-3 β , 17 β -diol	= 5 α , 3 β -Adiol
5 α -Androstan-3 α -ol-17-on	= Androsteron = 5 α , 3 α -A
5 α -Androstan-3 β -ol-17-on	= epi-Androsteron = 5 α , 3 β -A
5 β -Androstan-3 α -ol-17-on	= Ätiocholanolol = 5 β , 3 α -A
5 α -Androstan-17 β -ol-3-on	= 5 α -Dihydrotestosteron = 5 α -DHT
5 β -Androstan-17 β -ol-3-on	= 5 β -Dihydrotestosteron = 5 β -DHT
Androst-4-en-17 α -ol-3-on	= epi-Testosteron = e - T
Androst-4-en-17 β -ol-3-on	= Testosteron = T
5 α -Androstan-3, 17-dion	= 5 α -Androstandion = 5 α -Adion
5 β -Androstan-3, 17-dion	= 5 β -Androstandion = 5 β -Adion
Androst-4-en-3, 17-dion	= Androstendion = Δ^4 -A
6 β -Hydroxyandrost-4-en-17 β -ol-3-on	= 6 β -OH-Testosteron
16 α -Hydroxyandrost-4-en-17 β -ol-3-on	= 16 α -OH-Testosteron
6 β -Hydroxyandrost-4-en-3, 17-dion	= 6 β -OH-Androstendion
16 α -Hydroxyandrost-4-en-3, 17-dion	= 16 α -OH-Androstendion

A Einleitung

Der Abbau von Testosteron bzw. der Umbau von zirkulierendem Testosteron zu anderen androgen wirksamen Verbindungen findet in verschiedenen Organen statt. Das zeigen zahlreiche Inkubationsversuche von Testosteron mit hepatischen und extrahepatischen Geweben bei verschiedenen Tierarten. Insbesondere die Leber scheint eine zentrale Stellung im Androgenstoffwechsel einzunehmen. So wiesen SAMUELS et al. (26) nach, daß Testosteron in der Leber u.a. von Meerschweinchen, Kaninchen und Hund am C-Atom 17 dehydriert und die Doppelbindung zwischen C-4 und C-5 hydriert werden kann. YATES et al. (40) zeigten, daß in der Rattenleber die Doppelbindung von Δ^4 -3-Ketosteroiden hydriert und die 3-Ketogruppe zu 3 α - und 3 β -hydrierten Verbindungen reduziert wird. Bei Perfusionsversuchen (27) von Rattenlebern mit Testosteron entstanden 5 α - und 5 β -hydrierte Verbindungen. Aber nicht nur in der Leber, sondern auch in einer Reihe extrahepatischer Gewebe tierischer Herkunft wurde ein Stoffwechsel von Testosteron nachgewiesen: In den Testikeln (32), in der Brustdrüse (21), in der Niere (10), in den Vesikulardrüsen (19), im Gehirn (30), im Magen-Darmgewebe der Ratte (18), im Knorpel des Huhns (28) und in der Skelettmuskulatur des Hundes (29).

In all diesen Geweben wurde Testosteron zu Δ^4 -Androstendion umgewandelt. In der Niere und im Magen-Darmgewebe der Ratte entstanden außerdem 5 α -, 3 α -Androstandiol und 5 α -Dihydrotestosteron. In sogenannten Erfolgsorganen von Testosteron

(Prostata, Nebenhoden, Samenblase und Haut) wurde bei der Ratte Testosteron zu biologisch hochaktiven 5α -hydrierten Verbindungen, insbesondere zu 5α -Dihydrotestosteron umgewandelt (16, 15).

5α -Dihydrotestosteron wird als die Wirkform des "Prähormons" Testosteron angesehen (17).

Über den Testosteronstoffwechsel in menschlichen Geweben gibt es bisher nur wenige Untersuchungen.

Bei Inkubationsversuchen von Testosteron mit menschlichem Lebergewebe zeigte sich, daß Testosteron zu Δ^4 -Androstendion, zu 5α - und 5β -Dihydrotestosteron und zu 5α - und 5β -Androstandiolen umgesetzt wird (33, 22, 13).

In den extrahepatischen Geweben des Menschen, die bisher mit Testosteron inkubiert wurden, wie Blut (3, 35), verschiedene Tumorgewebe (4), Fettgewebe (11), Skelettmuskulatur (20) wurde Testosteron in Δ^4 -Androstendion umgewandelt. Inkubationsversuche mit menschlichem Prostata- und Hautgewebe zeigten, daß auch beim Menschen in sogenannten Erfolgsorganen von Testosteron v.a. 5α -hydrierte Verbindungen, insbesondere 5α -Dihydrotestosteron, entstehen (31, 39, 12).

Ein Schema des Stoffwechsels von Testosteron, wie es sich aus den verschiedenen Untersuchungen ergibt, zeigt Abbildung 1.

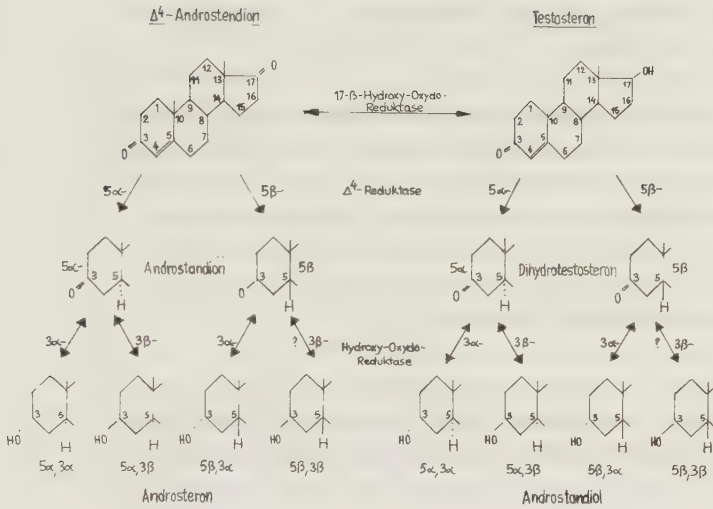


Abb. 1:

Schematische Darstellung des Stoffwechsels von Testosteron.

B Fragestellung

Über den Stoffwechsel von Testosteron in der Niere, in der Lunge und in der Magenschleimhaut des Menschen liegen bisher keine Untersuchungen vor. Nur eine Arbeit befaßt sich mit dem Testosteronstoffwechsel im Skelettmuskelgewebe des Menschen (20).

In der vorliegenden Arbeit wurde deswegen Muskel-, Nieren-, Lungen- und Magenschleimhautgewebe des Menschen mit Testosteron und Δ^4 -Androstendion inkubiert, um zu klären, ob in diesen Geweben in vitro ein Stoffwechsel von Testosteron und Δ^4 -Androstendion stattfindet und welche Verbindungen dabei entstehen.

Insbesondere sollte untersucht werden, ob und wie sich der extrahepatische Stoffwechsel von Testosteron vom Stoffwechsel in der Leber, wie er in der Literatur beschrieben ist, unterscheidet.

Eine weitere Frage war, ob biologisch aktive 5α -hydrierte Verbindungen, wie sie in Haut und Prostata nachgewiesen wurden, in den genannten Geweben entstehen.

C Versuchsteil

I. Methodisches Vorgehen

Gewebeschnitte von quergestreifter Muskulatur, Niere, Lunge und Magenschleimhaut wurden mit ^{14}C -Testosteron und ^3H -Androstendion mit oder ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten zum Inkubationsmedium inkubiert. ^{14}C -Testosteron, ^3H - Δ^4 -Androstendion und die entstandenen Metaboliten wurden dann extrahiert. Der Extrakt wurde gereinigt und die Steroide wurden zu TMSi-Äther umgesetzt und gas-chromatographisch anhand von nicht radioaktiv markierten Standardsubstanzen aufgetrennt. Die ^{14}C - und ^3H -Aktivität in den einzelnen Gasfraktionen wurde in einem Flüssigkeits-szintillationszähler gemessen und daraus wurde die prozentuale Verteilung der ^{14}C - und der ^3H -Aktivität in den einzelnen Fraktionen berechnet.

Ein Schema des methodischen Vorgehens findet sich in Abbildung 2.

II. Steroidreinsubstanzen

- 1) Folgende radioaktiv markierte Steroide wurden verwendet:

(4- ^{14}C)-Testosteron (spez. Aktivität 50.6 und 56.1 mC/mM)

(1,2- ^3H)-Testosteron (spez. Aktivität 42.3 C/mM)

(1,2- ^3H)- Δ^4 -Androstendion (spez. Aktivität 48 C/mM)

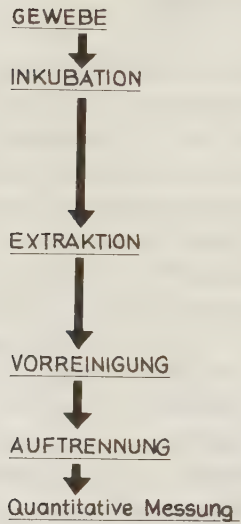


Abb. 2:

Schema des methodischen Vorgehens.

Diese Steroide wurden von der Firma New England Nuclear Corporation (NEN), Deutsche Niederlassung, Dreieichenhain bei Frankfurt/Main bezogen.

- 2) Folgende nicht radioaktiv markierte Steroide wurden verwendet:

Androst-4-en-3, 17-dien
~~5 α~~ -Androstan-3, 17-dion
 5 β -Androstan-3, 17-dion
 Androst-4-en-17 β -ol-3-on
 Androst-4-en-17 ~~α~~ -ol-3-on
~~5 α~~ -Androstan-17 β -ol-3-on
 5 β -Androstan-17 β -ol-3-on
 5 α -Androstan-3 ~~α~~ -ol-17-on
 5 β -Androstan-3 ~~α~~ -ol-17-on
~~5 α~~ -Androstan-3 α , 17 β -diol
 5 β -Androstan-3 ~~α~~ , 17 β -diol
~~5 α~~ -Androstan-3 β , 17 β -diol

Diese Steroide wurden von der Steroid-Reference-Collection, London, zur Verfügung gestellt. Ein Teil der Substanzen wurde in größeren Mengen großzügigerweise von der Fa. Schering, Berlin bereitgestellt oder von den Firmen Merck, Darmstadt und Steraloids, Croidon, England bezogen.

III. Reagenzien

Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD)

Nicotinamid-adenin-dinucleotid red. (NADH)

Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADP)
Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat red. (NADPH)
D-Glucose-6-phosphat
D-Glucose-6-phosphat-dehydrogenase

Obengenannte Substanzen (alle Reinheitsgrad II)
wurden von der Fa. Boehringer, Mannheim bezogen.

Magnesiumtrisilikat, Korngröße 60 - 100 mesh/o.15-
o.25 mm (Florisil), Fa. Serva, Heidelberg;

Aluminiumoxid stand., Aktivitätsstufe III,
Fa. Merck, Darmstadt;

Gaschrom Q, 80 - 100 mesh, mit 1 % Silikon XE 60
beschichtet, Fa. Applied Science Lab., State College,
PA., USA;

Hexamethyldisilazan, Fa. Schuchardt, München;

Trimethylchlorsilan, Fa. Serva, Heidelberg;

2-5-Diphenyloxazol (PPO), Fa. Packard, Frankfurt/Main;

1,4-bis-(4-Methyl-5-Phenyloxazol)-Benzol (POPOP),
Fa. Packard, Frankfurt/Main;

Alle übrigen Reagenzien wurden von der Fa. Merck,
Darmstadt, "pro analysi" oder "zur Gaschromatografie"
bezogen.

IV. Puffer-, Inkubations- und Reaktionslösungen

KREBS-HENSELEIT-RINGER-BIKARBONAT-Lösung (KHR-Bikarbonat-Lösung) nach KREBS und HENSELEIT (1932)

Stammlösung:

NaCl	(o.154m)	9.00 g/l	100.0 ml
KCl	(o.154m)	11.50 g/l	4.0 ml
CaCl ₂ x2(H ₂ O)	(o.110m)	16.15 g/l	3.0 ml
MgSO ₄ x7(H ₂ O)	(o.154m)	38.20 g/l	1.0 ml
KH ₂ PO ₄	(o.154m)	21.10 g/l	1.0 ml

Natriumbikarbonatlösung:

NaHCO ₃	(o.154m)	1.30 g/100 ml
--------------------	----------	---------------

Zur Herstellung der Inkubationslösung werden 109 ml Stammlösung und 21 ml Natriumbikarbonatlösung gemischt und 10 min bei 37°C mit Carbogen (95% O₂, 5% CO₂) begast, um einen pH von 7.4 einzustellen.

Inkubationslösung I: 3 ml KHR-Bikarbonat-Puffer mit Zusatz von D-Glucose (10 mM)

Inkubationslösung II: je 3 ml der KHR-Bikarbonat-Lösung wurden zugesetzt

NAD	0.6 mMol
NADH	0.6 mMol
NADP	0.5 mMol
D-Glucose-6-phosphat	2.0 mMol
D-Glucose-6-phosphat-dehydrogenase	1 E/ml
D-Glucose-Lösung 50 %	10.0 mMol

Dieser Ansatz entspricht den Angaben von NORTHCUTT et al., (24)

Silylierungsmittel:

Pyridin dest	0.02 ml
Hexamethyldisilazan	0.20 ml
Trimethylchlorsilan	0.02 ml

Szintillationsflüssigkeit:

2-5-Diphenyloxazol	4.0 g
1,4-bis-2-(4-Methyl-5-Phenyloxazol)-Benzol	0.1 g
Toluol	ad 1000 ml

V. Apparate

- 1) Gaschromatograph Modell 1400, Fa. Packard,
Frankfurt/Main
- 2) Gasfraktionskollektor Modell 850, Fa. Packard
- 3) Flüssigkeitsszintillationszähler "Trikarb", Modell
2002 und 3002, Fa. Packard
- 4) Warburg/scher Schüttelinkubator Modell V 166,
Fa. Braun, Melsungen
- 5) Homogenisator nach Potter-Elevhejm, Modell 719,
mit Glaszylinder und Teflonkolben, Fa. Braun,
Melsungen
- 6) Tischrechner Programma 101, Fa. Olivetti

VI. Arbeitsvorschrift

1) Gewinnung der Gewebe

Jeweils 10-20 g Gewebe wurden bei Operationen gewonnen und sofort nach Entnahme in eisgekühlten KHR-Bicarbonat-Puffer gegeben und innerhalb 15 min zur Inkubation gebracht. Muskelgewebe wurde bei Laparotomien (M.rectus) und Hüftgelenksoperationen (M.glutäus med.), Nierengewebe bei Nephrektomien, Magenschleimhaut bei Gastrektomien und Lungengewebe bei Lobektomien gewonnen.

Von makroskopisch unauffälligem Gewebe wurden Schnitte nach DEUTSCH (8) angefertigt und bis zur Inkubation in eisgekühltem Puffer aufbewahrt.

Für ihre bereitwillige Unterstützung bei der Gewebegewinnung sei folgenden Herren gedankt:

Herrn Prof. Dr. G. Heberer, Chirurgische Klinik der Universität und seinen Mitarbeitern.

Herrn Prof. Dr. A. N. Witt, Orthopädische Klinik der Universität und seinen Mitarbeitern.

Herrn Prof. Dr. E. Schmiedt, Urologische Klinik der Universität und seinen Mitarbeitern.

2) Inkubation der Gewebe

100 bzw. 200 mg Gewebeschnitte wurden mit 3.0 ml Inkubationslösung I (ohne wasserstoffübertragende Kofermente) oder mit 3.0 ml Inkubationslösung II (mit wasserstoffübertragenden Kofermenten) versetzt. Jedem Ansatz waren $0.3 \mu\text{M}$ ($4\text{-}^{14}\text{C}$)-Testosteron und 2 nM ($1,2\text{-}^3\text{H}$)- Δ^4 -Androstendion zugegeben.

Die in Äthanol gelösten radioaktiven Steroide wurden, um sie in wässrige Lösung zu bringen, in einem Glas- kolben zur Trockene gebracht und 1 Stunde lang mit Puffer auf einer Rotationsmaschine geschüttelt. Allen Ansätzen mit Gewebe liefern Kontrollansätze parallel, die bis auf den Gewebezusatz die gleiche Zusammensetzung hatten wie die Ansätze mit Gewebe. Inkubiert wurde 2 und 6 Stunden, bei einer Tempe- ratur von 37°C und einer Schüttelfrequenz von 100/min in einem Warburgapparat.

Zur Einstellung des pH-Werts von 7.4 wurden die Ansätze in den ersten 10 min der Inkubation mit Carbogen begast, dann wurden die Kölbchen luft- dicht verschlossen.

Nach der Inkubation wurde der Inhalt der Warburg- gläschen in Packardgläser übertragen und bis zur weiteren Verarbeitung bei -30°C eingefroren.

3) Extraktion des Inkubats, Reinigung des Extrakts

Nach dem Auftauen wurden die Proben homogenisiert und 15 min bei 4000 U/min zentrifugiert. Dem Über- stand wurden je $12.5\ \mu\text{g}$ der folgenden, nicht radio- aktiv markierten Steroidreinsubstanzen als interne Standards zugesetzt:

Testosteron, Δ^4 -Androstendion, epi-Testosteron, 5α - und 5β -Androstandion, 5α - und 5β -Dihydrotesto- steron, 5α -, 3α - und 5β -, 3α -Androsteron, 5α -, 3α -Androstandiol, 5β , 3α -Androstandiol und 5α , 3β -Androstandiol.

Der Überstand wurde auf eine mit 0.6 g Florisil gefüllte Glassäule gegeben. (Beim Durchlauf durch die Florisilsäule werden die im Überstand ent- haltenen, nicht veresterten Steroide, also Testo-

steron, Δ^4 -Androstendion und deren Metaboliten, an das Florisil gebunden.) Die Florisilsäule wurde mit 20 ml Aqua dest. nachgewaschen und mit nachgereinigtem Stickstoff getrocknet. Die Steroide wurden von der Florisilsäule mit 4 mal 1 ml Äthanol redest. eluiert.

Die Nachreinigung des Durchlaufs erfolgte an einer mit 1.0 g Aluminiumoxid gefüllten Glassäule.

Die Extraktion erfolgte nach Angaben von WIEDEMANN et al. (37)

Das Eluat wurde in Spitzgläsern aufgefangen und mit N_2 zur Trockene gebracht.

4) Gaschromatographie

Die Auftrennung der in den Extrakten enthaltenen Steroide erfolgte mit Hilfe der Gaschromatographie.* Dazu wurden die Extrakte 18 h bei Zimmertemperatur silyliert (Silylierungsmittel s.S. 10). Anschließend wurden die Proben mit nachgereinigtem N_2 zur Trockene gebracht und in 25 μ l redest.iso-Oktan gelöst. Von den 25 μ l wurden 5 μ l auf die Gaschromatographiesäule gespritzt und 5 μ l zur Messung der Gesamtaktivität in ein Messglas zur Flüssigkeitsszintillationsmessung gegeben. Das Trägergas und die darin enthaltenen Steroide bzw. Steroidäther wurden nach der Passage durch die Säule mit einem Glassplitter im Verhältnis 1 : 5 geteilt. 1/6 des Gases wurde einem Flammen-

*Bedingungen der Gaschromatographie: Glassäule 9 ft. lang, Innendurchmesser 2.5 mm. Säulenfüllmaterial: 1 % XE60 auf Gaschrom Q. Trägergas: N_2 , nachgereinigt. Gasfluß: 40-60 ml/min. Einlaßdruck: 10-20 psig. Auslaßdruck: Opsig. Säulentemp.: programmiert 170-225°C bei Temperaturerhöhung von 1.5°C/min. Auslaßtemp.: 225°C. Detektortemp.: 230°C. Flammenionisationsdetektor: Wasserstofffluß 40 ml/min, Luftfluß 600 ml/min. Detektorspannung: 50 V

ionisationsdetektor zur Registrierung der zugesetzten, nicht radioaktiv markierten Steroide zugeleitet, 5/6 des Gases wurden einem Gasfraktionskollektor zugeführt. Anhand der Massenpeaks der zugesetzten Steroide konnten die im Trägergas enthaltenen markierten und nicht markierten Steroide getrennt und in wattehaltigen Glasröhrchen kondensiert werden.

Abb. 3 zeigt die Trennung der nicht radioaktiv markierten zugesetzten Steroide auf einer 1% XE 60 Säule, temperaturprogrammiert 180-225°C, 2°C/min.

5) Radioaktivitätsmessung

Zur Messung der ^{14}C - und der ^3H -Aktivität in den einzelnen Fraktionen wurde die Watte aus den einzelnen Röhrchen in Meßgläser gegeben und in 1.0 ml Äthanol und 10 ml Szintillationsflüssigkeit in einem Flüssigkeitsszintillationszähler gemessen. * Standards mit einer bekannten Impulsmenge (^{14}C -Testosteron und ^3H - Δ^4 -Androstendion), die jeweils zum Vergleich mitgemessen wurden, enthielten die gleiche Menge Watte wie die Testproben.

*Einstellungen: Kanal I: Baseline discriminator A=180, upper discriminator B=1000; gain=8.5%, Kanal II: Baseline Meßdauer=10min/Meßglas. Ausbeute der ^{14}C - und ^3H -Aktivität: ^{14}C : auf Kanal I=27.4%; auf Kanal II=8.4%. ^3H : auf Kanal I=0.03%; auf Kanal II=20.2%.

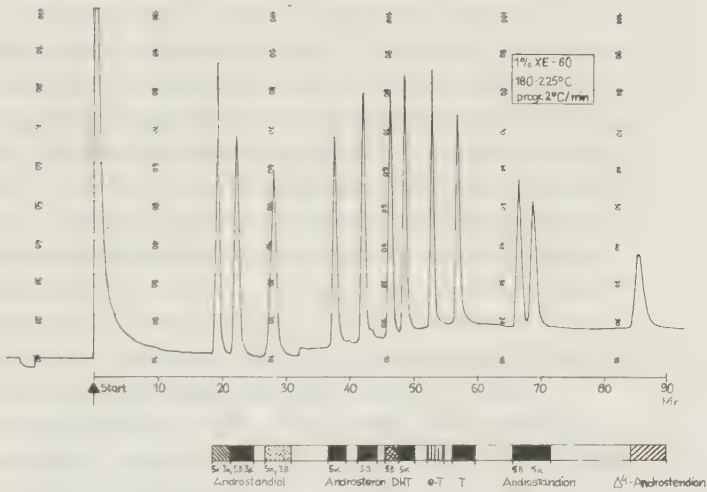


Abb. 3: Gaschromatographische Trennung von TMS-Derivaten von Testosteron und Testosteron-metaboliten auf einer 1% XE Säule, temperaturprogrammiert 180-225°C, 2°C/min.

6) Berechnung

Aus den Meßergebnissen in den beiden Kanälen des Szintillationszählers wurde die ^{14}C - und ^3H -Aktivität, die in jeder Fraktion enthalten war, getrennt berechnet.

Aus den ^{14}C - und ^3H -Impulsen in den einzelnen Fraktionen und der Summe der ^{14}C - und ^3H -Impulse des Kontrollansatzes wurde die prozentuale Verteilung der ^{14}C - und ^3H -Impulse in den einzelnen Fraktionen des Kontrollansatzes errechnet. Die ^{14}C - und ^3H -Impulse in den einzelnen Fraktionen des Gewebeansatzes wurden ebenso wie die Impulse des Kontrollansatzes errechnet und mit Hilfe der prozentualen Verteilung der ^{14}C - und ^3H -Impulse in den entsprechenden Fraktionen des Kontrollansatzes korrigiert. Aus den korrigierten ^{14}C - und ^3H -Impulsen in den einzelnen Fraktionen des Gewebeansatzes wurde die Summe der jeweiligen Impulse errechnet und daraus die prozentuale Verteilung der ^{14}C - und ^3H -Aktivität in den einzelnen Fraktionen des Gewebeansatzes ermittelt.

VII. Besprechung der Methoden

1) Adsorptionsextraktion von Testosteron, Δ^4 -Androstendion und deren Metaboliten

Wie Untersuchungen über die Adsorptionsextraktion von Testosteron, Δ^4 -Androstendion und deren Metaboliten zeigen (14), werden die genannten Steroide aus dem wässrigen Inkubationsmedium vollständig an Florisil adsorbiert. Im wässrigen Durchlauf erscheinen nur 0.02 - 0.05 % der dem Inkubationsmedium zugesetzten Aktivität. Dagegen ist die Elution der markierten Steroide von der Florisil- bzw. Aluminiumoxidsäule nicht voll-

ständig, sie beträgt 87 - 96 % der ursprünglich zugesetzten Aktivität von ^{14}C -Testosteron. Abb. 4 zeigt die Ergebnisse von 4 Wiederfindungsversuchen. Auch die nach der Inkubation zum Inkubat zugesetzten nicht radioaktiv markierten Steroide werden aus dem wässrigen Inkubat im gleichen Verhältnis zueinander an Florisil adsorbiert und mit Äthanol eluiert, wie aus den Gaschromatogrammen aller Gewebs- und Kontrollansätze hervorgeht. In der Wiederfindung der polaren Androstandiole und der unpolaren Verbindung Δ^4 -Androstendion besteht also kein Unterschied (siehe Abb. 5).

2) Gaschromatographie von Testosteron, Δ^4 -Androstendion und deren Metaboliten

Die Gaschromatographie eignet sich im Gegensatz zur Papierchromatographie besonders gut zur Trennung von Androgenen (9). Dabei lassen sich Trimethylsilylätherderivate von Androgenen besser trennen als die freien Steroide (23). Entsprechend ihrer verschiedenen langen Retentionszeit erscheinen die Steroide in einer bestimmten Reihenfolge in den verschiedenen Zonen (7, 14). Tabelle 1 zeigt die relativen Retentionszeiten verschiedener Androgene als TMS-Äther bzw. als freie Steroide nach den Angaben von DEMISCH und STAIB (7) und ENGELHARDT (14), mit der Angabe der Gasfraktionen, in denen während der Gaschromatographie ^{14}C - bzw. ^3H -Aktivitäten gemessen wurden. Von DEMISCH und STAIB (7) wurde eine 4 ft bzw. 6 ft lange Säule verwendet, isotherm gefahren bei 200°C , bzw. $210 - 220^\circ\text{C}$. Von ENGELHARDT (14) wurde wie bei den eigenen

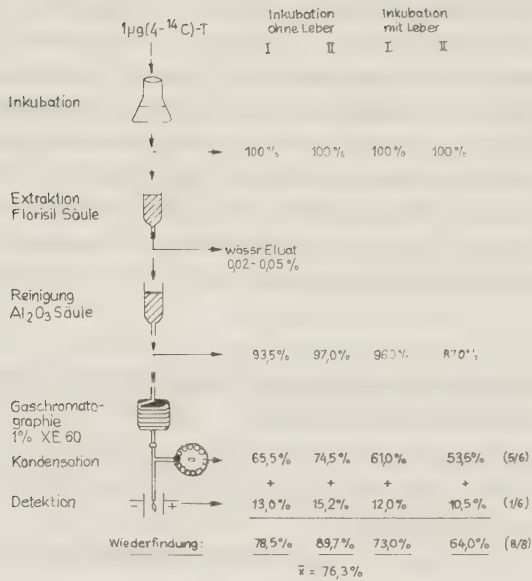


Abb. 4: Wiederfindung der ^{14}C -Aktivität bei der Aufarbeitung von 4 Inkubationsversuchen mit ^{14}C -Testosteron (14)

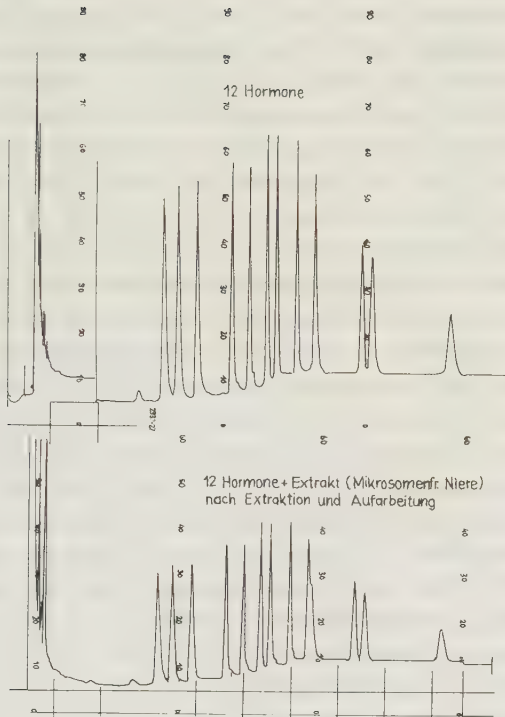


Abb. 5: Wiederfindung der nicht radioaktiv markierten Androgene am Flammenionisationsdetektor nach alleiniger Gaschromatographie (oberer Teil der Abbildung) bzw. nach Zugabe zum Inkubationsmedium und nach Extraktion, Aufarbeitung des Extrakts und anschließender Gaschromatographie (unterer Teil der Abbildung) (14)

Untersuchungen eine 9 ft lange Säule benutzt, programmiert von 180 - 225 °C mit einer Temperatursteigerung von 2°C/min. Wegen der verschiedenen Bedingungen der Gaschromatographie unterscheiden sich die relativen Retentionszeiten der einzelnen Metaboliten, verglichen mit Testosteron-TMS ($R_T = 1.00$). Die Reihenfolge des Erscheinens der einzelnen Steroide war bei beiden Trennverfahren jedoch gleich. Von den bekannten Verbindungen wurden nur die Androgene aufgeführt, die entweder schon als Metaboliten von Testosteron in vivo bzw. in vitro beim Menschen oder bei verschiedenen Tierarten nachgewiesen wurden, oder die auf Grund ihrer Struktur als Stoffwechselprodukte von Testosteron in Frage kommen. Wie Tabelle 1 und Abbildung 3 zeigen, entspricht Fraktion 1 der Zone vom Start der Gaschromatographie bis zum Erscheinen des 1. Steroids. In Fraktion 2 werden 5 α , 3 α -Androstandiol und 5 β , 3 β -Androstandiol erfaßt. Nur 5 α , 3 α -Androstandiol wurde bisher als Metabolit von Testosteron in humanem Lebergewebe erfaßt (33, 22). In Fraktion 3 findet sich 5 β , 3 α -Androstandiol und Androst-5-en-3 β , 17 α -diol. Eine Umwandlung von Testosteron in eine Δ^5 -Verbindung ist nicht bekannt, so daß dieser Zone nur 5 β , 3 α -Androstandiol erfaßt wird, das als Metabolit von Testosteron nachgewiesen wurde (33,22). In Fraktion 4 wird von den aufgeführten Steroiden keine Verbindung erfaßt. In Fraktion 5 werden 3 Steroide erfaßt: 5 α , 3 β -Androstandiol, 3 β -Androst-4-en-17 β -diol und Androst-5-en-3 β , 17 β -diol. Nur 5 α ,3 β -Androstandiol wurde bisher als Metabolit von Testosteron in menschlichen Geweben nachgewiesen (33, 22). Fraktion 6 entspricht einer Zwischenzone. In Fraktion 7 werden Androst-4, 16-dien-3-on, 5 α , 3 α -Androsteron und 5 β , 3 β -Androsteron erfaßt. Androst-4, 16-dien-3-on wurde von STYLIANOU et al., (33) als Metabolit von Testosteron

Frak- tion	Steroidreinsubstanzen-TMS	1% XE 60 9ft prog.180-225°	1% XE 60 6ft isoth.200°*
1	Vorzone		
2	5 β -Androstan-3 β ,17 β -diol(1)	0.31	0.16
	5 α -Androstan-3 α ,17 β -diol(2)	0.32	0.17
3	5 β -Androstan-3 α ,17 β -diol(3)	0.37	0.20
	Androst-5-en-3 β ,17 α -diol(4)	0.39	-
4	Zwischenzone		
5	5 α -Androstan-3 β ,17 β -diol(5)	0.46	0.25
	Androst-4-en-3 β ,17 β -diol(6)	0.47	-
	Androst-5-en-3 β ,17 β -diol(7)	0.47	-
6	Zwischenzone		
7	Androst-4,16-dien-3-on(8)	0.60	-
	5 α -Androstan-3 α -ol-17-on(9)	0.62	0.35
	5 β -Androstan-3 β -ol-17-on(10)	0.63	0.37
8	Zwischenzone		
9	5 β -Androstan-3 α -ol-17-on(11)	0.71	0.43
10	Zwischenzone		
11	5 α -Androstan-3 β -ol-17-on(12)	0.785	0.55
12	5 β -Androstan-17 β -ol-3-on(13)	0.79	0.54
12	5 α -Androstan-17 β -ol-3-on(14)	0.84	0.61
13	5 α -Androstan-3 α ,11 β -diol-17-on(15)	0.86	-
14	Androst-4-en-17 α -ol-3-on(16)	0.94	-
15	5 α -Androstan-3 α -ol-11-17-dion(17)	0.96	-
	Androst-4-en-6 β ,17 β -diol-3-on(18)	0.97	0.88*
16	Androst-4-en-17 β -ol-3-on(19)	1.00	1.00
	Androst-4-en-14 α ,17 β -diol-3-on(20)	-	1.00*
	Androst-4-en-7 α ,17 β -diol-3-on(21)	-	1.02*
	5 α -Androstan-3 α ,11 β -diol-17-on(15)	1.06	-
17	Androst-4-en-2 β ,17 β -diol-3-on(22)	-	1.13*
	Androst-4-en-17 β ,18-diol-3-on(23)	-	1.39*
	Androst-4-en-15 α ,17 β -diol-3-on(24)	-	1.43*
18	5 β -Androstan-3,17-dion(25)	1.11	1.45
19	Androst-4-en-17 β ,19-diol-3-on(26)	-	1.50*
	Androst-4-en-6 α ,17 β -diol-3-on(27)	-	1.52*
	5 α -Androstan-3,17-dion(28)	1.15	1.55
20	Androst-4-en-11 β ,17 β -diol-3-on(29)	-	1.60*
	Androst-4-en-16 α ,17 β -diol-3-on(30)	1.20	1.72*
21	Androst-4-en-16 β ,17 β -diol-3-on(31)	-	1.95*
22	Androst-4-en-6 β -ol-3,17-dion(32)	1.32	2.07*
	Androst-4-en-11 β -ol-3,17-dion(33)	-	2.54*
23	Androst-4-en-3,17-dion(34)	1.38	2.58
24	Androst-4-en-7 α -ol-3,17-dion(35)	-	2.65*
	Androst-4-en-16 α -ol-3,17-dion(36)	1.44	2.66*
	Androst-4-en-14 α -ol-3,17-dion(37)	-	2.70*
25	Androst-4-en-19-ol-3,17-dion(38)	-	3.40*
	Androst-4-en-6-ol-3,17-dion(39)	-	3.68*
	Androst-4-en-17 β -ol-3,16-dion(40)	-	3.78*

*nach den Angaben von DEMISCH und STAIB (1969)
 1% XE 60, 4ft, isoth. 210-220°.
 freie Steroide

Tabelle 1: Relative Retentionszeiten (Testosteron-TMS: 1.00)
 verschiedener Androgene als TMS-Äther bzw. als
 freie Steroide auf einer 1 % XE 60 Säule nach
 DEMISCH und STAIB (6, 7) und ENGELHARDT (14).

aus humanem Lebergewebe, 5α , 3α -Androsteron wurde von verschiedenen Autoren aus humaner Haut isoliert. Fraktion 8 enthält keine der getesteten Verbindungen. In Fraktion 9 erscheint nur 5β , 3α -Androsteron. In Fraktion 10 erscheint der größte Teil von 5α , 3β -Androsteron, in Fraktion 11 erscheint der Rest dieser Verbindung und zusätzlich 5β -Dihydrotestosteron. In Fraktion 12 wird nur 5α -Dihydrotestosteron erfaßt. 5β - und 5α -Dihydrotestosteron wurden als Metaboliten von Testosteron aus humanem Lebergewebe isoliert (22). 5α -Dihydrotestosteron wurde in sogenannten Erfolgsorganen von Testosteron (Haut, Prostata, Samenblase, Nebenhoden) nachgewiesen (16). In Fraktion 13 läuft ein Teil von 11-Hydroxy- 5α , 3α -Androsteron, in Fraktion 14 Epitestosteron und in Fraktion 15 11-Keto- 5α , 3α -Androsteron und 6β -Hydroxy-Testosteron. 6β -Hydroxy-Testosteron wurde von LISBOA et al., (22) in der menschlichen Leber nachgewiesen. Fraktion 16 enthält neben dem zugesetzten Testosteron noch 14α -Hydroxy-Testosteron, eine Verbindung, die bis jetzt nicht als Metabolit von Testosteron beim Menschen in vitro isoliert wurde. Fraktion 17 enthält 7α -Hydroxy- und 2β -Hydroxy-Testosteron und einen Teil von 11-Hydroxy- 5α , 3α -Androsteron. In Fraktion 18 werden 5β -Androstandion und weitere hydroxylierte Verbindungen von Testosteron (15α -, 18- und 19-Hydroxy-Testosteron) erfaßt. In Fraktion 19 erscheinen 5α -Androstandion und 6α -Hydroxy-Testosteron. 6α - und 5β -Androstandion wurden von LISBOA et al., (22) als Metaboliten von Testosteron in menschlichem Lebergewebe nachgewiesen. In den Fraktionen 20 und 21 werden weitere hydroxylierte Metaboliten von Testosteron erfaßt. In Fraktion 22 erscheint

6 β -Hydroxy- Δ^4 -Androstendion, ein Metabolit von Testosteron in der menschlichen Leber (22). In Fraktion 22 erscheint außerdem 11 β -Hydroxy- Δ^4 -Androstendion. In Fraktion 23 erscheint Δ^4 -Androstendion. In der letzten Fraktion 24 wird neben anderen hydroxylierten Verbindungen 16 α -Hydroxy- Δ^4 -Androstendion, ein Metabolit von Testosteron in der menschlichen Leber (22) erfaßt.

3) Beständigkeit von Testosteron und Δ^4 -Androstendion während Inkubation, Aufarbeitung und Gaschromatographie als TMS-Äther

Untersuchungen über die Beständigkeit der eingesetzten Androgene ^{14}C -Testosteron und ^3H - Δ^4 -Androstendion während der gesamten Aufarbeitung zeigen, daß eine 6-stündige Inkubation (in der vorliegenden Arbeit wurde nur 2 Stunden inkubiert) und die anschließende Aufarbeitung keinen Einfluß auf die Wiederfindung der Aktivität der genannten Steroide nach der Gaschromatographie haben (14). In Abbildung 6 sind die Ergebnisse der Wiederfindungsversuche von ^{14}C -Testosteron und ^3H - Δ^4 -Androstendion ohne oder nach 6-stündiger Inkubation aufgeführt. Während einer 6-stündigen Inkubation ohne Gewebe findet also kein Stoffwechsel von Testosteron oder Δ^4 -Androstendion unter den gewählten Inkubationsbedingungen statt. Auch führt die weitere Aufarbeitung der Ansätze zu keiner Zerstörung der Verbindungen.

Sowohl bei den Kontrollansätzen wie auch bei den Versuchen, bei denen die radioaktiven Steroide ohne Inkubation, Extraktion und Reinigung direkt silyliert und gaschromatographisch aufgetrennt

wurden, konnten jedoch im Durchschnitt nur 80 % der gaschromatographisch wiedergefundenen Aktivität von ^{14}C -Testosteron und ^3H - Δ^4 -Androstendion in den Gasfraktionen von Testosteron und Δ^4 -Androstendion wiedergefunden werden. Der Rest der Aktivität verteilte sich auf andere Fraktionen. Dieser Befund entspricht den Untersuchungsergebnissen von CHAMBAZ et al., (5). Diese Autoren fanden, daß bei der Gaschromatographie von TMS-Derivaten von Testosteron zusätzlich aufgetretene konstante Massenpeaks sich in ihrer Retentionszeit z. T. erheblich von Testosteron-TMS unterscheiden. Mit Hilfe der Massenspektrographie wurden die den Peaks entsprechenden Substanzen als Enoläther bzw. als Di-TMS-Derivate von Testosteron identifiziert. Zudem blieb ein geringer Teil von Testosteron unsilyliert und erschien damit mit der gleichen Retentionszeit wie unsilyliertes Testosteron. Auch bei ^3H - Δ^4 -Androstendion, einer Verbindung ohne silylierbare Hydroxylgruppen, dürfte zu einem geringen Teil eine Enolätherbildung stattfinden. Die silylierten Enolverbindungen haben eine kürzere Retentionszeit als Δ^4 -Androstendion selbst, so daß die Aktivität von ^3H - Δ^4 -Androstendion nicht vollständig in der Zone von Δ^4 -Androstendion erscheint.

4) Radioaktivitätsverluste bei der Aufarbeitung der Gewebsextrakte

Untersuchungen (14) über die Verluste von ^{14}C -Testosteron und dessen Metaboliten während der Aufarbeitung zeigten, daß während Extraktion und Vorreinigung des Extrakts die

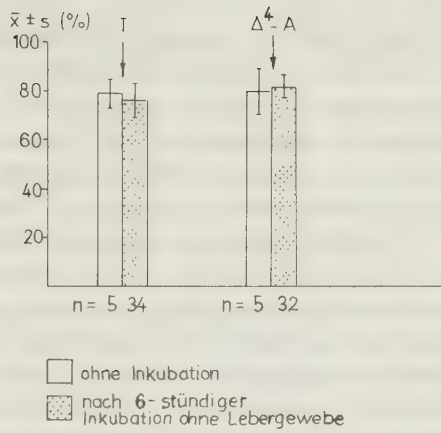


Abb. 6: Wiederfindung der Radioaktivität von ^{14}C -Testosteron und ^3H - Δ^4 -Androstendion in den Gasfraktionen von Testosteron und Δ^4 -Androstendion ohne oder nach 6-stündiger Inkubation (14).

Aktivitätsverluste gering sind (3 - 13 %). Die Adsorption der ^{14}C -Aktivität an Florisil ist nahezu vollständig, im wässrigen Durchlauf der Florisilsäule erscheinen nur 0.02 - 0.05 % der ^{14}C -Aktivität. Dies bedeutet, daß unter den gegebenen Bedingungen Testosteron und dessen Metaboliten höchstens in sehr geringem Ausmaß verestert wird, da Sulfat- und Glucuronidester von Florisil nicht aus einem wässrigen Medium adsorbiert werden (37). Der größte Verlust an ^{14}C -Aktivität (7 - 23 %) tritt bei der Gasfraktionierung und Gaskondensierung am Gasfraktionskollektor auf. Man muß daher annehmen, daß die TMS-Äther am Gasfraktionskollektor nicht vollständig kondensiert werden. Am Ende der Aufarbeitung erscheinen am Fraktionskollektor 64 - 90 % der eingesetzten ^{14}C -Aktivität. Abbildung 4, Seite 18 zeigt die Ergebnisse von 2 Inkubationen mit Lebergewebe und von 2 Kontrollinkubationen ohne Gewebe. Jeweils nach den einzelnen Arbeitsschritten wurde ein aliquoter Teil den Proben entnommen und darin die ^{14}C -Aktivität gemessen und so die Verluste bei den einzelnen Arbeitsgängen bestimmt.

D Ergebnisse

I. Inkubation von (4-¹⁴C)-Testosteron und (1,2-³H)- Δ^4 -Androstendion mit Muskelgewebe

Inkubiert wurden jeweils 200 mg Gewebeschnitte mit $0.3 \mu\text{M}$ (4-¹⁴C)-Testosteron und 2nM (1,2-³H)- Δ^4 -Androstendion, ohne oder mit wasserstoffübertragenden Kofermenten. Die Inkubationsdauer betrug bei den Versuchen I und III 2 Stunden, bei den Versuchen II und IV 6 Stunden. Bei den Ansätzen ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten war nahezu die gesamte ¹⁴C-Aktivität (im Mittel 89 %) in der Zone von Testosteron. In der Zone von Δ^4 -Androstendion oder in anderen Zonen konnte keine oder nur geringe Menge ¹⁴C-Aktivität nachgewiesen werden. Tabelle 2 zeigt die Verteilung der ¹⁴C-Aktivität in den einzelnen Gasfraktionen bei diesen Ansätzen. Die Berechnung der Verteilung der ³H-Aktivität in den einzelnen Zonen bei den Ansätzen ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten ergab, daß die ³H-Aktivität fast ausschließlich (im Mittel 87 %) in der Zone von Δ^4 -Androstendion lokalisiert war. In anderen Zonen, wie in der Zone von Testosteron, war keine Anreicherung von ³H-Aktivität nachzuweisen. Tabelle 3 zeigt die Verteilung der ³H-Aktivität in den Gasfraktionen bei diesen Ansätzen.

Quergestreifter Muskel I

Muskel II

Patient	M.A.			B.E.		H.A.	
	Ansatz	1	2	3		1	2
Fraktion							
Vorzone		1.93	0.34	0.46	0.00	0.00	0.00
5 α , 3 α -Adiol		0.19	0.09	0.12	0.14	0.00	0.03
5 β , 3 α -Adiol		0.23	0.10	0.09	0.13	0.00	0.00
Zwischenzone		0.09	0.06	0.07	0.03	0.00	0.00
5 α , 3 β -Adiol		0.33	0.09	0.09	0.09	0.00	0.00
Zwischenzone		0.77	0.98	0.57	0.02	0.00	0.00
5 α , 3 α -Adiol		0.06	0.04	0.04	0.06	0.00	0.00
Zwischenzone		0.15	0.10	0.09	0.00	0.00	0.00
5 β , 3 α -Adiol		0.13	0.10	0.11	0.11	0.00	0.00
5 α , 3 β -Adiol		0.11	0.10	0.10	0.03	0.00	0.00
5 β -DHT		0.43	0.10	0.09	0.01	0.00	0.00
5 α -DHT		0.63	0.24	0.16	0.09	0.00	0.00
Zwischenzone		0.36	0.32	0.30	0.12	0.00	0.00
e - T		0.19	0.11	0.10	0.00	0.00	0.00
6 β -OH-T		1.49	1.13	1.93	1.23	0.00	0.00
T		<u>70.51</u>	<u>90.29</u>	<u>81.97</u>	<u>97.07</u>	<u>97.21</u>	<u>98.32</u>
Zwischenzone		21.26	5.62	11.05	0.00	0.00	0.00
5 β -Adion		0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5 α -Adion		0.00	0.00	0.00	0.16	0.00	0.00
16 α -OH-T		-	-	-	-	-	-
Zwischenzone		0.00	0.01	0.17	0.00	1.19	0.00
6 β -OH- Δ^4 -A		-	-	-	-	-	-
Δ^4 -A		<u>1.02</u>	<u>0.15</u>	<u>2.43</u>	<u>0.51</u>	<u>1.51</u>	<u>1.64</u>
16 α -OH- Δ^4 -A		0.00	0.00	0.00	0.18	0.00	0.00

Tab. 2: Verteilung der ^{14}C -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von (4- ^{14}C -)Testosteron und (1,2- ^3H -) Δ^4 -Androstendion mit Muskelgewebe von 1 Mann (M.A.) und 2 Frauen (B.E. u. H.A.)
 Ansätze ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

Patient Ansatz	M.A.			H.A.	
	1	2	3	1	2
Fraktion					
Vorzone	14.71	1.48	1.82	2.39	0.00
5 α ,3 α -Adiol	0.25	0.08	0.08	0.17	0.00
5 β ,3 α -Adiol	0.07	0.11	0.06	0.47	0.00
Zwischenzone	0.04	0.04	0.02	0.30	0.00
5 α ,3 β -Adiol	0.04	0.08	0.08	0.18	0.00
Zwischenzone	0.11	0.00	0.08	0.09	0.00
5 α ,3 α -A	0.00	0.00	0.00	0.34	0.02
Zwischenzone	1.54	0.04	0.03	0.00	0.00
5 β ,3 α -A	0.00	0.00	0.00	0.59	0.23
5 α ,3 β -A	0.04	0.00	0.00	0.07	0.00
5 β -DHT	0.00	0.00	0.00	0.28	0.35
5 α -DHT	0.00	0.00	0.00	0.34	0.35
Zwischenzone	0.13	0.23	0.00	0.00	0.00
e - T	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6 β -OH-T	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Zwischenzone	0.00	0.00	0.00	0.81	0.00
5 β -Adion	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5 α -Adion	0.00	0.00	0.00	0.18	0.02
16 α -OH-T	-	-	-	-	-
Zwischenzone	3.68	5.81	6.66	0.83	0.62
6 β -OH- Δ^4 -A	-	-	-	-	-
Δ^4 -A	50.93	78.35	86.75	92.90	98.74
16 α -OH- Δ^4 -A	28.28	13.51	4.35	0.00	0.00

Tab. 3: Verteilung der ^3H -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von ($4\text{-}^{14}\text{C}$)-Testosteron und ($1,2\text{-}^3\text{H}$)- Δ^4 -Androstendion mit Muskelgewebe von 1 Mann (M.A.) und 2 Frauen (B.E. u. H.A.)
Ansätze ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

Die Ansätze mit Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten zeigten in der Verteilung der ^{14}C - und der ^3H -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen ein ähnliches Ergebnis wie die Ansätze ohne Zugabe von Kofermenten. Nahezu die gesamte ^{14}C -Aktivität (im Mittel 93 %) war in der Zone von Testosteron und fast die gesamte ^3H -Aktivität (im Mittel 90 %) war in der Zone von Δ^4 -Androstendion. Tabelle 4 zeigt die Verteilung der ^{14}C -Aktivität und Tabelle 5 zeigt die Verteilung der ^3H -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen bei den Ansätzen von Muskelgewebe mit $4\text{-}^{14}\text{C}$ -Testosteron und $1,2\text{-}^3\text{H}\text{-}\Delta^4$ -Androstendion bei Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten zum Inkubationsmedium. Bei den Inkubationsversuchen mit Muskelschnitten des Menschen konnte also weder ohne noch mit Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten zum Inkubationsmedium ein Stoffwechsel von Testosteron und Δ^4 -Androstendion nachgewiesen werden. Auch die Verlängerung der Inkubationszeit auf 6 Stunden brachte keinen Nachweis eines Metabolismus von Testosteron und Δ^4 -Androstendion in Gewebsschnitten quergestreifter Muskulatur.

Fraktion	Patient	H.A.			H.W.	
	Ansatz	1	2	3	1	2
Vorzone		0.00	0.04	0.00	0.83	0.00
5 α ,3 α -Adiol		0.03	0.04	0.00	0.19	0.12
5 β ,3 α -Adiol		0.00	0.02	0.00	0.15	0.04
Zwischenzone		0.00	0.05	0.00	0.04	0.01
5 α ,3 β -Adiol		0.00	0.02	0.00	0.12	0.05
Zwischenzone		0.00	0.03	0.00	0.00	0.22
5 α ,3 α -A		0.00	0.00	0.00	0.10	0.00
Zwischenzone		0.00	0.00	0.00	0.05	0.00
5 β ,3 α -A		0.00	0.01	0.00	0.07	0.06
5 α ,3 β -A		0.01	0.00	0.00	0.17	0.03
5 β -DHT		0.00	0.01	0.00	0.04	0.00
5 α -DHT		0.00	0.07	0.00	0.00	0.00
Zwischenzone		0.00	0.06	0.00	0.04	0.00
e - T		0.79	0.02	0.00	0.41	0.01
6 β -OH-T		0.00	0.08	0.00	0.00	0.00
T		98.58	99.20	98.39	77.62	91.17
Zwischenzone		0.00	0.00	0.00	16.55	6.17
5 β -Adion		0.00	0.00	0.00	1.36	0.05
5 α -Adion		0.00	0.08	0.00	0.36	0.22
16 α -OH-T		-	-	-	-	-
Zwischenzone		0.05	0.07	1.15	0.45	1.21
6 β -OH- Δ^4 -A		-	-	-	-	-
Δ^4 -A		0.52	0.14	0.40	0.18	0.23
16 α -OH- Δ^4 -A		0.00	0.00	0.00	0.11	0.39

Tab. 4: Verteilung der ^{14}C -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von (4- ^{14}C)-Testosteron und (1,2- ^3H)- Δ^4 -Androstendion mit Muskelgewebe von 1 Frau (H.A.) und 1 Mann (H.W.)

Ansätze mit Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

	Patient			H.W.	
	Ansatz	1	2	3	1 2
Fraktion					
Vorzone		0.65	0.00	0.00	1.77 3.16
5 α , 3 α -Adiol		0.23	0.00	0.15	0.07 0.37
5 β , 3 α -Adiol		0.09	0.00	0.00	0.01 0.18
Zwischenzone		0.00	0.02	0.00	0.10 0.14
5 α , 3 β -Adiol		0.01	0.00	0.00	0.00 0.10
Zwischenzone		0.89	0.00	0.02	0.16 0.00
5 α , 3 α -A		0.15	0.00	0.00	0.33 0.33
Zwischenzone		0.00	0.01	0.03	0.18 0.00
5 β , 3 α -A		0.04	0.04	0.00	0.13 0.01
5 α , 3 β -A		0.42	0.00	0.00	0.04 0.04
5 β -DHT		0.13	0.00	0.00	0.07 0.15
5 α -DHT		0.00	0.00	0.00	0.13 0.55
Zwischenzone		0.00	0.01	0.00	0.09 0.00
e - T		0.00	0.00	0.00	0.14 0.00
6 β -OH-T		0.00	0.00	0.00	0.00 0.22
T		0.00	0.00	0.00	0.00 0.00
Zwischenzone		0.12	0.00	0.00	0.37 1.02
5 β -Adion		1.58	0.00	0.00	0.38 0.00
5 α -Adion		0.01	0.05	0.11	0.22 0.26
16 α -OH-T		-	-	-	- -
Zwischenzone		2.86	0.05	0.44	3.22 3.17
6 β -OH- Δ^4 -A		-	-	-	- -
Δ^4 -A		92.79	99.79	91.51	76.08 90.49
16 α -OH- Δ^4 -A		0.00	0.00	7.73	16.32 0.00

Tab. 5: Verteilung der ^3H -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von (4- ^{14}C)-Testosteron und (1,2- ^3H)- Δ^4 -Androstendion mit Muskelgewebe von 1 Frau (H.A.) und 1 Mann (H.W.)
 Ansätze mit Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

II. Inkubation von (4-¹⁴C)-Testosteron und (1,2-³H)- Δ^4 -Androstendion mit Nierengewebe.

Jeweils 200 mg Gewebeschnitte wurden mit $0.3 \mu\text{M}$ (4-¹⁴C)-Testosteron und mit (1,2-³H)- Δ^4 -Androstendion (2nM) 2 Stunden ohne oder mit wasserstoffübertragenden Kofermenten inkubiert. Die Verteilung der ¹⁴C- und der ³H-Aktivität in den verschiedenen Fraktionen zeigen die Tabellen 6 - 9.

Bei den Versuchen ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten zum Inkubationsmedium waren 79 % (Pat. S.M.) bzw. im Mittel 93 % (Pat. A.W.) der ¹⁴C-Aktivität in der Zone von Testosteron. 9 % (Pat. S.M.) bzw. 3 % (Pat. A.W.) waren in der Zone von Δ^4 -Androstendion. Die Verteilung der ³H-Aktivität bei den Ansätzen ohne Zugabe von Kofermenten war folgendermaßen:

76 % (Pat. S.M.) bzw. 93 % (Pat. A.W.) waren in der Zone von Δ^4 -Androstendion, während in der Zone von Testosteron 8 % (Pat. S.M.) bzw. 0.6 bis 1 % (Pat. A.W.) errechnet wurden.

Außer in den Zonen von Testosteron und Δ^4 -Androstendion konnte bei den Ansätzen ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten keine Aktivitätsakkumulation festgestellt werden; d.h.: es fand eine geringe Umwandlung von Testosteron in Δ^4 -Androstendion und umgekehrt statt.

Die Versuche mit Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten zeigten folgende Ergebnisse:

In der Zone von Testosteron waren 95 % (Pat. S.M.) bzw. 85 % (Pat. A.W.) der ^{14}C -Aktivität, während in der Zone von Δ^4 -Androstendion 3 % (Pat. S.M.) bzw. 8 - 16 % (Pat. A.W.) lokalisiert waren. 64 % (Pat. S.M.), 59 % (Pat. S.G.) und 33 - 90 % (Pat. A.W.) der ^3H -Aktivität waren in der Zone von Δ^4 -Androstendion, während in der Zone von Testosteron 21 % (Pat. S.M.), 14 - 21 % (Pat. S.G.) und 0.4 - 43 % (Pat. A.W.) lokalisiert waren.

Auch bei den Ansätzen mit Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten konnte außer in den Zonen von Testosteron und Δ^4 -Androstendion keine Aktivitätsakkumulation nachgewiesen werden.

Bei Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten wurde mehr Testosteron in Δ^4 -Androstendion und Δ^4 -Androstendion in Testosteron umgewandelt als ohne deren Zugabe. Bei den Ansätzen mit Kofermenten überwog dabei die Umwandlung von Δ^4 -Androstendion in Testosteron gegenüber der Umwandlung von Testosteron in Δ^4 -Androstendion.

Fraktion	Patient	S.M.			
	Ansatz	1a	2a	1b	2b
Vorzone		0.00	0.21	0.00	0.88
5 α , 3 α -Adiol		0.07	0.04	4.64	0.59
5 β , 3 α -Adiol		0.02	0.14	0.06	0.45
Zwischenzone		0.01	0.23	0.07	0.53
5 α -3 β -Adiol		0.00	0.21	0.09	2.03
Zwischenzone		0.00	0.18	8.62	0.73
5 α , 3 α -A		0.45	0.19	0.39	0.32
Zwischenzone		0.03	0.26	0.18	0.52
5 β , 3 α -A		0.00	0.23	0.01	0.52
5 α , 3 β -A		0.03	0.24	0.04	1.16
5 β -DHT		0.00	0.19	0.12	1.05
5 α -DHT		0.00	0.00	0.00	0.17
Zwischenzone		0.00	0.14	0.21	0.48
e - T		0.00	0.00	0.49	0.17
6 β -OH-T		0.00	0.00	0.54	0.74
T		95.07	79.44	21.03	8.86
Zwischenzone		0.00	0.88	1.00	1.66
5 β -Adion		0.24	0.72	0.22	0.45
5 α -Adion		0.00	0.45	0.27	0.40
16 α -OH-T		0.00	1.36	0.34	0.72
Zwischenzone		0.00	3.45	1.23	0.95
6 β -OH- Δ^4 -A		0.35	1.59	0.12	0.00
Δ^4 -A		3.40	9.25	64.28	76.40
16 α -OH- Δ^4 -A		0.30	0.55	0.00	0.83

Tab. 6: Verteilung der ^{14}C -Aktivität (1a u. 2a) und der ^3H -Aktivität (1b u. 2b) in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von (4- ^{14}C)-Testosteron und (1,2- ^3H)- Δ^4 -Androstendion mit Nierengewebe einer Frau. Ansätze 1a u. 1b mit, Ansätze 2a u. 2b ohne Zusatz von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

Patient Ansatz	S.G.		
	1	2	3
Fraktion			
Vorzone	0.21	1.72	0.17
5 α , 3 α -Adiol	0.21	0.53	0.16
5 β , 3 α -Adiol	0.28	0.15	0.18
Zwischenzone	0.06	0.24	0.19
5 α , 3 β -Adiol	0.28	0.34	0.13
Zwischenzone	1.49	3.55	0.53
5 α , 3 α -A	1.63	1.51	3.79
Zwischenzone	0.12	0.55	0.23
5 β , 3 α -A	0.07	0.44	0.14
5 α , 3 β -A	0.23	0.29	0.13
5 β -DHT	0.72	2.64	0.95
5 α -DHT	0.94	1.33	0.86
Zwischenzone	2.34	1.02	0.69
e - T	1.01	3.10	0.47
6 β -OH-T	1.82	1.22	0.60
T	<u>20.61</u>	<u>14.72</u>	<u>14.30</u>
Zwischenzone	1.98	3.56	1.36
5 β -Adion	0.31	1.09	0.46
5 α -Adion	3.26	3.38	3.47
16 α -OH-T	1.40	1.80	0.53
Zwischenzone	2.58	2.05	1.24
6 β -OH- Δ^4 -A	6.14	1.00	2.39
Δ^4 -A	<u>52.21</u>	<u>52.71</u>	<u>66.92</u>
16 α -OH- Δ^4 -A	0.00	0.00	0.00

Tab. 7: Verteilung der ^3H -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von (1,2- ^3H)-Androstendion mit Nierengewebe einer Frau.
Ansätze mit Zugabe wasserstoffübertragender Kofermente.

Patient	A.W.				
Ansatz	1	2	3	4	5
Fraktion					
Vorzone	0.07	0.00	0.00	0.19	0.07
5 α ,3 α -Adiol	0.10	0.05	0.02	0.05	0.08
5 β ,3 α -Adiol	0.03	0.01	0.01	0.01	0.01
Zwischenzone	0.00	0.01	0.00	0.01	0.13
5 α ,3 β -Adiol	0.14	0.10	0.11	0.07	0.00
Zwischenzone	1.00	0.55	0.00	3.03	0.34
5 α ,3 α -A	0.09	0.08	0.09	0.14	0.04
Zwischenzone	0.05	0.06	0.02	0.08	0.06
5 β ,3 α -A	0.05	0.04	0.03	0.20	0.06
5 α ,3 β -A	0.04	0.01	0.02	0.01	0.11
5 β -DHT	0.09	0.10	0.13	0.12	0.16
5 α -DHT	0.22	0.24	0.42	0.26	0.00
Zwischenzone	0.24	0.14	0.13	0.23	0.00
e - T	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6 β -OH-T	0.00	0.00	0.34	0.00	0.00
T	88.18	84.59	81.26	91.71	94.66
Zwischenzone	0.00	1.97	0.00	0.28	0.47
5 β -Adion	0.33	0.23	0.15	0.19	0.01
5 α -Adion	0.19	0.22	0.38	0.12	0.00
16 α -OH-T	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Zwischenzone	0.00	0.00	0.00	0.00	0.39
6 β -OH- Δ^4 -A	0.89	0.51	1.12	0.47	0.19
Δ^4 -A	7.99	10.61	15.57	2.64	3.17
16 α -OH- Δ^4 -A	0.24	0.46	0.16	0.13	0.16

Tab. 8: Verteilung der ^{14}C -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von (4- ^{14}C)-Testosteron und (1,2- ^3H)- Δ^4 -Androstendion mit Nierengewebe eines Mannes. Ansätze 1, 2 und 3 mit, Ansätze 4 und 5 ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

Patient	A.W.				
Ansatz	1	2	3	4	5
Fraktion					
Vorzone	0.00	0.26	0.00	0.57	4.05
5 α ,3 α -Adiol	1.29	0.08	0.29	0.03	0.03
5 β ,3 α -Adiol	0.00	0.66	0.07	0.13	0.02
Zwischenzone	0.00	0.22	0.00	0.02	0.02
5 α ,3 β -Adiol	0.00	1.03	0.00	0.00	0.47
Zwischenzone	10.54	1.48	0.20	0.99	0.00
5 α ,3 α -A	0.24	0.21	0.53	0.16	0.04
Zwischenzone	0.12	0.27	6.54	0.41	1.55
5 β ,3 α -A	0.00	0.34	0.00	0.00	0.07
5 α ,3 β -A	0.08	0.73	0.14	0.31	0.04
5 β -DHT	0.28	1.10	0.47	0.90	0.37
5 α -DHT	0.00	0.35	0.37	0.00	0.00
Zwischenzone	0.53	1.04	0.49	0.55	2.05
e - T	0.00	1.98	0.00	0.00	0.00
6 β -OH-T	0.00	1.73	0.10	0.00	0.01
T	3.04	43.49	0.37	0.00	1.41
Zwischenzone	0.00	0.65	0.00	0.00	0.07
5 β -Adion	0.00	2.73	0.00	1.06	0.00
5 α -Adion	0.25	0.79	0.36	0.00	0.19
16 α -OH-T	0.00	0.79	0.00	0.00	0.00
Zwischenzone	0.00	1.46	0.00	0.00	0.00
6 β -OH- Δ^4 -A	0.00	6.27	0.00	0.00	0.00
Δ^4 -A	83.61	32.70	90.40	94.82	90.98
16 α -OH- Δ^4 -A	0.00	0.18	0.00	0.00	0.00

Tab. 9: Verteilung der ^3H -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von ($4\text{-}^{14}\text{C}$)-Testosteron und ($1,2\text{-}^3\text{H}$)- Δ^4 -Androstendion mit Nierengewebe eines Mannes. Ansätze 1,2 und 3 mit Zugabe, Ansätze 4 und 5 ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

III. Inkubation von (4-¹⁴C)-Testosteron und (1,2-³H)- Δ^4 -Androstendion mit Lungengewebe.

Jeweils 200 mg Gewebeschnitte zweier männlicher Patienten wurden mit $0.3 \mu\text{M}$ (4-¹⁴C)-Testosteron und mit 2 nM (1,2-³H)- Δ^4 -Androstendion mit oder ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten 2 Stunden inkubiert. Die Verteilung der ¹⁴C- und der ³H-Aktivität in den verschiedenen Zonen ist in den Tabellen 10 - 14 aufgeführt.

Bei den Ansätzen ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten zum Inkubationsmedium waren im Mittel 95 % (Pat. W.O.) und 81 % (Pat. L.A.) der ¹⁴C-Aktivität in der Zone von Testosteron, während in der Zone von Δ^4 -Androstendion 2 % (Pat. W.O.) und 7 % (Pat. L.A.) lokalisiert waren.

Die Berechnung der Verteilung der ³H-Aktivität in den einzelnen Fraktionen ergab in der Zone von Δ^4 -Androstendion im Mittel 88 % (Pat. W.O.) und 92 % (Pat. L.A.) bzw. in der Zone von Testosteron 0.0 - 4.7 % (Pat. W.O.) und 2 % (Pat. L.A.)

Bei den Ansätzen mit Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten (nur Pat. L.A.) waren im Mittel 39 % der ¹⁴C-Aktivität in der Zone von Testosteron und 13 - 53 % in der Zone von Δ^4 -Androstendion.

Die Verteilung der ³H-Aktivität war folgendermaßen: im Mittel waren 85 % in der Zone von Δ^4 -Androstendion und 5 % in der Zone von Testosteron.

Sowohl bei den Ansätzen mit wie bei den Ansätzen ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten zum Inkubationsmedium konnte eine Umwandlung von Testosteron zu Δ^4 -Androstendion und umgekehrt von Δ^4 -Androstendion zu Testosteron nachgewiesen werden. In anderen Zonen als in denen von Testosteron und Δ^4 -Androstendion war keine Akkumulation von ^{14}C - oder ^3H -Aktivität festzustellen.

Unter Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten fand, wie auch schon bei der Niere, ein regerer Stoffwechsel zwischen Testosteron und Δ^4 -Androstendion statt als ohne deren Zugabe. Im Gegensatz zur Niere war aber beim Lungengewebe das Reaktionsgleichgewicht zwischen Testosteron und Δ^4 -Androstendion zu Gunsten des Δ^4 -Androstendion verschoben.

Patient Ansatz	W.O.				
	1	2	3	4	5
Fraktion					
Vorzone	0.02	0.00	0.20	0.17	0.71
5 α ,3 α -Adiol	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00
5 β ,3 α -Adiol	0.02	0.00	0.08	0.03	0.07
Zwischenzone	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5 α ,3 β -Adiol	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Zwischenzone	0.16	0.12	0.27	0.00	0.15
5 α ,3 α -A	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Zwischenzone	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00
5 β ,3 α -A	0.00	0.00	0.06	0.01	0.07
5 α ,3 β -A	0.01	0.00	0.27	0.00	0.05
5 β -DHT	0.00	0.02	0.04	0.03	0.11
5 α -DHT	0.01	0.02	0.11	0.00	0.05
Zwischenzone	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
e - T	0.00	0.00	0.00	0.00	0.66
6 β -OH-T	1.99	0.05	0.77	0.00	2.45
T	94.98	98.34	95.09	96.57	98.72
Zwischenzone	0.00	0.00	0.00	0.00	2.67
5 β -Adion	0.34	0.00	0.09	0.06	0.14
5 α -Adion	0.00	0.00	0.00	0.00	0.12
16 α -OH-T	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Zwischenzone	0.00	0.00	0.00	1.17	0.00
6 β -OH- Δ^4 -A	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Δ^4 -A	2.25	1.42	2.70	1.65	2.78
16 α -OH- Δ^4 -A	0.19	0.00	0.20	0.10	0.20

Tab. 10: Verteilung der ^{14}C -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von ($4\text{-}^{14}\text{C}$)-Testosteron und ($1,2\text{-}^3\text{H}$)-Androstendion mit Lungengewebschnitten. Ansätze ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

Patient	W.O.				
Ansatz	1	2	3	4	5
Fraktion					
Vorzone	4.62	0.00	0.42	0.21	2.02
5 α ,3 α -Adiol	0.63	0.00	0.00	0.00	0.00
5 β ,3 α -Adiol	0.10	0.00	0.06	0.00	0.00
Zwischenzone	0.08	0.00	0.01	0.00	0.03
5 α ,3 β -Adiol	0.32	0.20	0.18	0.18	0.06
Zwischenzone	0.26	0.00	0.00	0.00	0.00
5 α ,3 α -A	0.48	0.01	0.34	0.29	0.22
Zwischenzone	0.24	0.25	0.21	0.25	0.14
5 β ,3 α -A	0.35	0.00	0.22	0.13	0.08
5 α ,3 β -A	0.00	0.00	0.11	0.00	0.85
5 β -DHT	0.32	0.05	0.00	0.13	0.19
5 α -DHT	0.39	0.07	0.45	0.73	0.03
Zwischenzone	0.07	0.00	0.07	0.00	0.00
e - T	0.71	0.11	0.37	0.33	0.15
6 β -OH-T	2.08	0.00	0.22	0.00	0.00
T	0.89	1.88	0.73	4.71	0.00
Zwischenzone	0.78	0.00	0.47	0.47	0.78
5 β -Adion	0.69	0.00	0.11	0.14	0.00
5 α -Adion	0.32	0.00	0.04	0.02	1.60
16 α -OH-T	0.73	0.17	0.00	0.00	0.73
Zwischenzone	0.75	1.49	0.22	1.31	0.40
6 β -OH- Δ^4 -A	0.00	0.00	0.00	0.00	1.66
Δ^4 -A	74.33	95.29	95.74	91.42	90.52
16 α -OH- Δ^4 -A	0.78	0.00	0.00	0.00	0.49

Tab. 11: Verteilung der ^3H -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von (4- ^{14}C)-Testosteron und (1,2- ^3H)-Androstendion mit Lungengewebschnitten. Ansätze ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

Patient		L.A.			
Ansatz	1	2	3	4	
Fraktion					
Vorzone	0.35	8.99	0.00	1.62	
5 α ,3 α -Adiol	0.32	1.54	0.75	0.36	
5 β ,3 α -Adiol	0.01	1.44	0.08	0.03	
Zwischenzone	0.62	0.97	0.16	0.19	
5 α ,3 β -Adiol	0.36	1.35	0.19	0.19	
Zwischenzone	0.00	2.68	0.00	0.07	
5 α ,3 α -A	0.72	0.86	0.18	1.04	
Zwischenzone	0.22	0.48	0.28	0.00	
5 β ,3 α -A	0.21	1.65	0.25	0.86	
5 α ,3 β -A	0.12	1.25	0.09	0.09	
5 β -DHT	0.31	2.26	0.33	0.71	
5 α -DHT	0.15	1.74	0.07	0.41	
Zwischenzone	0.17	1.68	0.13	0.56	
e - T	0.22	1.31	0.24	1.23	
6 β -OH-T	0.23	1.20	0.00	0.00	
T	<u>30.05</u>	<u>36.24</u>	<u>47.43</u>	<u>44.38</u>	
Zwischenzone	0.62	9.36	0.02	1.94	
5 β -Adion	0.16	2.03	0.00	0.01	
5 α -Adion	0.38	1.05	0.17	0.82	
16 α -OH-T	0.67	1.14	0.03	0.80	
Zwischenzone	0.00	0.96	0.09	0.80	
6 β -OH- Δ^4 -A	9.29	5.06	4.25	4.76	
Δ^4 -A	<u>53.47</u>	<u>13.56</u>	<u>43.85</u>	<u>37.92</u>	
16 α -OH- Δ^4 -A	1.34	1.22	1.32	1.17	

Tab. 12: Verteilung der ^{14}C -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von (4- ^{14}C)-Testosteron und (1,2- ^3H)- Δ^4 -Androstendion mit Lungengewebe. Ansätze mit Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

Patient Ansatz	L.A.			
	1	2	3	4
Fraktion				
Vorzone	0.00	0.44	0.00	0.00
5 α ,3 α -Adiol	0.00	0.91	0.00	0.00
5 β ,3 α -Adiol	0.07	0.51	0.00	0.30
Zwischenzone	0.00	1.66	0.00	0.00
5 α ,3 β -Adiol	0.30	0.17	0.00	0.00
Zwischenzone	0.00	0.00	0.00	0.00
5 α ,3 α -A	0.44	0.52	0.35	0.32
Zwischenzone	0.02	0.06	0.05	0.01
5 β ,3 α -A	0.08	0.20	0.00	1.44
5 α ,3 β -A	0.08	0.26	0.00	0.01
5 β -DHT	0.01	0.27	0.00	0.00
5 α -DHT	0.00	0.16	0.00	0.00
Zwischenzone	0.00	0.00	0.00	0.00
e - T	10.41	0.05	0.00	0.00
6 β -OH-T	1.27	0.59	0.67	0.00
T	3.07	7.21	5.54	3.86
Zwischenzone	1.22	4.02	0.00	0.00
5 β -Adion	0.41	1.04	0.00	0.00
5 α -Adion	0.88	0.50	0.20	0.05
16 α -OH-T	0.28	0.14	0.22	0.00
Zwischenzone	0.00	0.00	0.00	0.00
6 β -OH- Δ^4 -A	0.97	3.91	0.00	0.00
Δ^4 -A	79.77	75.79	92.54	93.79
16 α -OH- Δ^4 -A	0.67	1.15	0.40	0.22

Tab. 13: Verteilung der ^3H -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von ($4\text{-}^{14}\text{C}$)-Testosteron und ($1,2\text{-}^3\text{H}$)-Androstendion mit Lungengewebe. Ansätze mit Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

Patient	L.A.			
Ansatz	1a	2a	1b	2b
Fraktion				
Vorzone	0.00	0.98	0.00	0.00
5 α , 3 α -Adiol	0.00	0.74	0.00	0.00
5 β , 3 α -Adiol	0.06	0.07	0.91	0.02
Zwischenzone	0.58	0.09	0.00	0.00
5 α , 3 β -Adiol	0.22	0.28	0.14	0.19
Zwischenzone	0.00	0.00	0.00	0.00
5 α , 3 α -A	0.00	0.68	0.15	0.01
Zwischenzone	0.00	0.26	0.31	0.11
5 β , 3 α -A	0.00	1.05	0.00	0.00
5 α , 3 β -A	0.00	0.36	0.05	0.00
5 β -DHT	0.00	0.99	0.00	0.00
5 α -DHT	0.00	1.57	0.49	0.00
Zwischenzone	0.00	0.25	0.00	0.08
e - T	0.00	9.04	0.00	0.00
6 β -OH-T	0.00	2.51	1.55	1.69
T	89.07	72.50	1.89	1.96
Zwischenzone	0.00	0.00	0.00	0.00
5 β -Adion	0.00	0.63	0.31	0.18
5 α -Adion	0.00	1.15	1.30	1.04
16 α -OH-T	0.48	1.25	0.24	0.00
Zwischenzone	0.00	0.00	0.00	0.00
6 β -OH- Δ^4 -A	0.00	0.55	0.00	0.00
Δ^4 -A	9.29	4.61	91.11	92.55
16 α -OH- Δ^4 -A	0.28	0.43	1.61	2.14

Tab. 14: Verteilung der ^{14}C -Aktivität (1a und 2a) und der ^3H -Aktivität (1b und 2b) in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von (4- ^{14}C)-Testosteron und (1,2- ^3H)- Δ^4 -Androstendion mit Lungengewebe. Ansätze ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

IV. Inkubation von (4-¹⁴C)-Testosteron und (1,2-³H)-⁴-Androstendion mit Magenschleimhaut.

Jeweils 200 mg Gewebeschnitte wurden mit 0.3 μ M (4-¹⁴C)-Testosteron und mit 2 nM (1,2-³H)- Δ^4 -Androstendion ohne oder mit Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten 2 Stunden inkubiert. Ein Inkubationsversuch (Pat. V.A.) wurde mit 3 μ M (1,2-³H)-Testosteron durchgeführt. Die Verteilung der ¹⁴C- und der ³H-Aktivität in den verschiedenen Fraktionen ist in den Tabellen 15 - 22 aufgeführt.

Bei den Ansätzen ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten war die Verteilung der ¹⁴C-Aktivität wie folgt: 45 % (Pat. L.K.) und 74 % (Pat. G.H.) waren im Mittel in der Zone von Testosteron, 32 % (Pat. L.K.) und 12 % (Pat. G.H.) konnten im Mittel in der Zone von Δ^4 -Androstendion nachgewiesen werden.

Die ³H-Aktivität bei den Ansätzen, die mit ¹⁴C-Testosteron und ³H-Androstendion inkubiert wurden, war fast ausschließlich in der Zone von Δ^4 -Androstendion lokalisiert. Nur bei Pat. G. H. waren in einem Ansatz 2 % der ³H-Aktivität in der Zone von Testosteron.

Bei den Ansätzen mit Magenschleimhaut von Pat. V.A., die nur mit (1,2-³H)-Testosteron inkubiert wurden, waren im Mittel 93 % der ³H-Aktivität in der Zone von Testosteron, während in der Zone von Δ^4 -Androstendion nur 1 % nachgewiesen wurden. In anderen Zonen als in denen von Testosteron und Δ^4 -Androstendion konnte bei den Ansätzen ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten zum Inkubationsmedium keine vermehrte ¹⁴C- oder ³H-Aktivität aufgezeigt werden.

Bei den Ansätzen mit Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten waren im Mittel 22 % (Pat. L.K.) bzw. 7 - 82 % (Pat. G.H.) der ^{14}C -Aktivität in der Zone von Testosteron, während in der Zone von Δ^4 -Androstendion im Mittel 54 % (Pat. L.K.) bzw. 13 - 76 % (Pat. G.H.) lokalisiert waren.

In der Zone von $5\alpha,3\alpha$ -Androsteron konnten bei Pat. L.K. im Mittel 1.6 % der ^{14}C -Aktivität gefunden werden. Bei den Ansätzen von Pat. V.A. die nur mit (1,2- ^3H)-Testosteron inkubiert wurden, waren 86 % der ^3H -Aktivität in der Zone von Testosteron und 8 % in der Zone von Δ^4 -Androstendion.

Die Verteilung der ^3H -Aktivität bei den Ansätzen, die mit ^{14}C -Testosteron und ^3H -Androstendion inkubiert wurden, war folgendermaßen: im Mittel 86 % (Pat. L.K. und G.H.) in der Zone von Δ^4 -Androstendion, 1 - 9 % (Pat. L.K.) und 0 - 7 % (Pat. G.H.) in der Zone von Testosteron, im Mittel 2.3 % (Pat. L.K.) in der Zone von $5\alpha,3\alpha$ -Androsteron.

Außer in den Zonen von Testosteron, Δ^4 -Androstendion und $5\alpha,3\alpha$ -Androsteron konnte bei den Ansätzen mit Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten zum Inkubationsmedium keine Akkumulation von ^{14}C - oder ^3H -Aktivität nachgewiesen werden.

Insgesamt wurde also auch in Magenschleimhaut durch Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten die Umsetzung von Testosteron in Δ^4 -Androstendion erhöht, wobei wie im Lungengewebe das Reaktionsgleichgewicht zu Gunsten von Δ^4 -Androstendion verschoben war.

Patient	V.A.				
	Ansatz	1	2	3	4
Fraktion					
Vorzone		0.66	0.42	0.00	0.49
5 α , 3 α -Adiol		0.10	0.37	0.14	0.08
5 β , 3 α -Adiol		0.21	0.22	0.18	0.25
Zwischenzone		0.00	0.04	0.02	0.00
5 α , 3 β -Adiol		0.16	0.09	0.00	0.52
Zwischenzone		0.42	0.45	0.00	0.15
5 α , 3 α -A		0.00	0.38	0.03	0.00
Zwischenzone		0.00	0.00	0.27	0.00
5 β , 3 α -A		0.16	0.13	0.00	0.10
5 α , 3 β -A		0.14	0.05	0.35	0.01
5 β -DHT		0.01	0.00	0.00	0.12
5 α -DHT		0.22	0.17	1.25	0.11
Zwischenzone		0.10	0.25	0.00	0.00
e - T		1.23	0.68	0.25	0.33
6 β -OH-T		0.00	0.00	0.00	0.00
T		87.17	79.41	87.47	91.51
Zwischenzone		0.69	0.65	0.98	0.00
5 β -Adion		0.23	0.25	0.33	0.09
5 α -Adion		0.18	0.30	0.40	0.00
16 α -OH-T		0.91	0.43	0.59	0.35
Zwischenzone		0.00	0.15	0.80	0.00
6 β -OH- Δ^4 -A		0.00	0.75	1.69	0.00
Δ^4 -A		7.10	14.13	4.96	5.84
16 α -OH- Δ^4 -A		0.26	0.59	0.19	0.01

Tab. 15: Verteilung der ^3H -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von (1,2- ^3H)-Testosteron mit Magenschleimhaut eines Mannes.
Ansätze mit Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

Patient	V.A.			
Ansatz	1	2	3	4
Fraktion				
Vorzone	0.68	0.25	0.31	0.00
5 α -3 α -Adiol	0.04	0.31	0.03	0.32
5 β -3 α -Adiol	0.01	0.06	0.05	0.15
Zwischenzone	0.13	1.23	0.09	0.02
5 α ,3 β -Adiol	0.05	0.09	0.12	0.11
Zwischenzone	0.00	0.15	0.25	0.00
5 α ,3 α -A	0.00	0.00	0.00	0.00
Zwischenzone	0.00	0.00	0.00	0.00
5 β ,3 α -A	0.99	0.09	0.02	0.02
5 α ,3 β -A	0.49	0.02	0.59	0.27
5 β -DHT	0.51	0.05	0.09	0.00
5 α -DHT	0.56	0.07	0.26	0.41
Zwischenzone	0.58	0.01	0.04	0.00
e - T	0.17	1.01	0.43	0.56
6 β -OH-T	0.44	0.00	0.00	0.07
T	90.18	93.32	96.38	93.44
Zwischenzone	0.00	1.12	0.27	0.08
5 β -Adion	0.49	0.00	0.13	0.25
5 α -Adion	0.22	0.00	0.04	0.32
16 α -OH-T	0.58	0.00	0.01	0.77
Zwischenzone	0.00	0.20	0.00	1.82
6 β -OH- Δ^4 -A	0.33	0.00	0.00	0.13
Δ^4 -A	0.57	1.87	0.79	0.99
16 α -OH- Δ^4 -A	0.05	0.00	0.02	0.22

Tab. 16: Verteilung der ^3H -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von (1,2- ^3H)-Testosteron mit Magenschleimhaut eines Mannes.
Ansätze ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

Patient Ansatz	L.K.				
	1	2	3	4	5
Fraktion					
Vorzone	11.25	1.01	0.68	1.20	1.14
5 α , 3 α -Adiol	6.18	0.23	0.23	0.00	0.06
5 β , 3 α -Adiol	3.94	0.20	0.09	0.14	0.92
Zwischenzone	0.85	0.04	0.07	0.00	0.07
5 α , 3 β -Adiol	1.25	1.46	0.71	0.91	0.14
Zwischenzone	2.27	0.44	0.38	0.11	0.35
5 α , 3 α -A	2.00	1.46	0.79	2.46	1.69
Zwischenzone	0.31	0.44	0.03	0.00	0.35
5 β , 3 α -A	0.59	1.46	0.25	0.68	0.33
5 α , 3 β -A	3.17	0.08	0.20	0.08	0.00
5 β -DHT	0.44	3.26	0.21	0.45	0.46
5 α -DHT	0.45	1.74	0.15	0.00	0.12
Zwischenzone	0.44	1.66	1.07	0.25	0.27
e - T	0.56	1.23	0.17	0.15	0.13
6 β -OH-T	3.25	0.41	0.00	0.38	0.44
T	17.10	22.90	34.34	25.03	10.94
Zwischenzone	3.28	0.72	0.36	1.00	0.81
5 β -Adion	0.16	0.35	0.21	0.31	0.07
5 α -Adion	0.86	1.41	0.39	0.92	1.01
16 α -OH-T	0.46	0.90	0.73	0.20	0.26
Zwischenzone	0.01	0.85	1.55	0.59	0.21
6 β -OH- Δ^4 -A	4.23	6.78	4.54	6.71	3.43
Δ^4 -A	38.67	50.85	51.81	57.24	72.63
16 α -OH- Δ^4 -A	0.00	1.68	0.96	0.98	4.09

Tab. 17: Verteilung der ^{14}C -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von (4- ^{14}C)-Testosteron und (1,2- ^3H)- Δ^4 -Androstendion mit Magenschleimhaut eines Mannes.

Ansätze mit Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

Patient Ansatz	L.K.				
	1	2	3	4	5
Fraktion					
Vorzone	0.00	0.00	0.20	0.97	1.17
5 α ,3 α -Adiol	0.08	0.00	0.30	0.06	0.00
5 β ,3 α -Adiol	0.01	0.05	0.19	0.16	0.00
Zwischenzone	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5 α ,3 β -Adiol	0.45	1.97	1.18	1.18	0.04
Zwischenzone	0.94	0.55	0.64	0.15	0.09
5 α ,3 α -A	2.98	2.01	1.44	3.40	1.75
Zwischenzone	0.00	0.19	0.24	0.00	0.38
5 β ,3 α -A	0.76	0.84	0.46	1.05	0.56
5 α ,3 β -A	0.00	0.06	0.22	0.02	0.00
5 β -DHT	0.36	0.35	0.32	0.62	0.33
5 α -DHT	0.00	0.01	0.06	0.00	0.00
Zwischenzone	0.03	0.00	0.22	0.17	0.24
e - T	0.05	0.62	0.47	0.14	0.02
6 β -OH-T	1.03	0.46	0.00	0.75	0.53
T	6.84	5.84	9.37	3.39	0.66
Zwischenzone	0.73	0.80	1.11	1.08	0.61
5 β -Adion	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00
5 α -Adion	0.71	0.48	0.21	0.59	0.36
16 α -OH-T	0.12	0.01	0.56	0.00	0.00
Zwischenzone	0.00	0.00	0.48	0.00	0.00
6 β -OH- Δ^4 -A	0.00	1.18	0.00	0.00	0.00
Δ^4 -A	84.87	84.51	81.90	86.21	92.38
16 α -OH- Δ^4 -A	0.00	0.00	0.00	0.00	0.83

Tab. 18: Verteilung der ^3H -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von (4- ^{14}C)-Testosteron und (1,2- ^3H)- Δ^4 -Androstendion mit Magenschleimhaut eines Mannes.

Ansätze mit Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

Patient Ansatz	L.K.		G.H.	
	1	2	1	2
Fraktion				
Vorzone	2.67	1.67	0.00	0.00
5 α ,3 α -Adiol	0.21	0.36	0.00	0.00
5 β ,3 α -Adiol	0.33	0.37	0.00	0.00
Zwischenzone	0.22	0.45	0.02	0.00
5 α ,3 β -Adiol	0.31	0.35	0.00	0.00
Zwischenzone	0.56	0.08	0.00	0.00
5 α ,3 α -A	1.68	1.26	0.00	0.00
Zwischenzone	0.01	0.25	0.05	0.00
5 β ,3 α -A	1.54	0.67	0.04	0.00
5 α ,3 β -A	0.01	0.07	0.00	0.00
5 β -DHT	1.22	0.92	0.00	0.00
5 α -DHT	0.64	1.20	0.00	0.00
Zwischenzone	1.35	0.05	0.00	0.00
e - T	2.34	0.66	0.91	0.91
6 β -OH-T	5.17	0.00	3.94	0.00
T	<u>48.95</u>	<u>40.41</u>	<u>82.51</u>	<u>70.89</u>
Zwischenzone	2.78	0.31	0.00	0.00
5 β -Adion	0.87	1.99	0.00	0.00
5 α -Adion	1.68	2.29	0.06	0.21
16 α -OH-T	1.35	1.08	0.37	0.21
Zwischenzone	1.30	0.43	1.59	1.59
6 β -OH- Δ^4 -A	2.16	0.12	0.24	3.24
Δ^4 -A	<u>21.82</u>	<u>41.42</u>	<u>10.01</u>	<u>13.51</u>
16 α -OH- Δ^4 -A	0.75	3.56	0.20	0.32

Tab. 19: Verteilung der ^{14}C -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von (4- ^{14}C)-Testosteron und (1,2- ^3H)- Δ^4 -Androstendion mit Magenschleimhaut eines Mannes (L.K.) und einer Frau (G.H.)

Ansätze ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

Patient Ansatz	L.K.		G.H.	
	1	2	1	2
Fraktion				
Vorzone	4.06	0.00	1.86	0.12
5 α , 3 α -Adiol	0.01	0.56	0.06	0.00
5 β , 3 α -Adiol	0.08	0.00	0.46	0.00
Zwischenzone	0.17	0.07	0.19	0.02
5 α , 3 β -Adiol	0.21	0.42	0.29	5.00
Zwischenzone	0.50	0.00	0.43	0.00
5 α , 3 α -A	1.70	0.83	1.40	0.24
Zwischenzone	0.11	0.16	0.02	0.00
5 β , 3 α -A	0.27	0.06	0.87	0.00
5 α , 3 β -A	0.04	0.00	0.46	0.18
5 β -DHT	0.69	0.36	0.68	0.00
5 α -DHT	0.00	0.72	0.48	0.07
Zwischenzone	0.32	0.07	0.19	0.12
e - T	0.04	0.16	0.25	0.25
6 β -OH-T	0.41	1.09	0.70	0.18
T	0.76	0.00	0.00	2.04
Zwischenzone	0.00	0.00	0.36	0.08
5 β -Adion	0.02	0.42	0.00	0.00
5 α -Adion	1.06	1.18	0.27	0.38
16 α -OH-T	0.92	0.00	0.07	0.07
Zwischenzone	1.50	0.47	0.56	0.00
6 β -OH- Δ^4 -A	0.00	0.00	1.74	8.84
Δ^4 -A	87.01	90.88	88.06	87.33
16 α -OH- Δ^4 -A	0.00	2.48	0.52	0.00

Tab. 20: Verteilung der ^3H -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von (4- ^{14}C)-Testosteron und (1,2- ^3H)- Δ^4 -Androstendion mit Magenschleimhaut eines Mannes (L.K.) und einer Frau (G.H.)
Ansätze ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

Patient	G.H.				
Ansatz	1	2	3	4	5
Fraktion					
Vorzone	3.69	0.53	0.00	1.45	0.00
5 α ,3 α -Adiol	0.10	0.59	0.08	0.08	0.17
5 β ,3 α -Adiol	0.00	0.18	0.07	0.07	0.00
Zwischenzone	0.04	0.31	0.13	0.11	0.01
5 α ,3 β -Adiol	0.05	0.33	0.12	0.77	0.00
Zwischenzone	0.23	0.90	0.00	0.44	0.00
5 α ,3 α -A	0.32	1.01	0.24	1.19	0.00
Zwischenzone	0.00	0.17	0.05	0.07	0.15
5 β ,3 α -A	0.01	0.15	0.02	0.37	0.00
5 α ,3 β -A	0.00	0.01	0.03	0.13	0.00
5 β -DHT	0.11	0.16	0.03	0.22	0.00
5 α -DHT	0.00	0.05	0.12	0.56	0.00
Zwischenzone	0.12	0.27	0.00	0.39	0.00
e - T	0.15	0.58	0.00	0.41	0.08
6 β -OH-T	0.00	0.20	0.00	0.35	0.00
T	24.11	35.80	38.43	7.28	82.56
Zwischenzone	0.05	0.38	0.00	0.40	0.00
5 β -Adion	0.01	0.00	1.15	0.49	0.23
5 α -Adion	0.46	0.51	1.71	1.06	0.12
16 α -OH-T	0.36	0.47	0.57	0.57	0.31
Zwischenzone	0.51	0.37	0.56	0.99	1.93
6 β -OH- Δ^4 -A	3.18	2.70	0.72	3.70	0.74
Δ^4 -A	65.33	53.61	51.13	75.85	13.28
16 α -OH- Δ^4 -A	0.83	0.63	4.01	1.77	0.36

Tab. 21: Verteilung der ^{14}C -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von (4- ^{14}C)-Testosteron und (1,2- ^3H)- Δ^4 -Androstendion mit Magenschleimhaut einer Frau.

Ansätze mit Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

Patient	G.H.				
Ansatz	1	2	3	4	5
Fraktion					
Vorzone	4.21	2.53	0.51	0.52	0.52
5 α ,3 α -Adiol	0.32	1.09	0.23	0.69	0.19
5 β ,3 α -Adiol	0.36	0.05	0.33	0.42	0.14
Zwischenzone	0.09	0.16	0.51	0.04	0.10
5 α ,3 β -Adiol	0.41	0.16	0.38	0.52	0.23
Zwischenzone	0.25	0.71	0.04	0.48	0.64
5 α ,3 α -A	0.44	1.30	0.46	0.75	0.34
Zwischenzone	0.29	1.04	0.00	0.09	0.50
5 β ,3 α -A	0.00	0.51	0.21	0.05	0.40
5 α ,3 β -A	0.00	0.18	0.04	0.00	7.84
5 β -DHT	0.00	0.40	0.38	0.06	0.05
5 α -DHT	0.00	0.23	0.45	0.00	0.09
Zwischenzone	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00
e - T	0.00	0.77	0.48	0.00	0.55
6 β -OH-T	0.10	1.27	1.02	0.00	0.59
T	0.00	0.93	6.82	0.00	2.60
Zwischenzone	0.70	0.99	0.00	0.00	0.88
5 β -Adion	0.00	0.00	0.54	0.00	0.00
5 α -Adion	0.38	0.65	1.70	0.44	0.22
16 α -OH-T	0.00	0.26	0.13	0.00	0.67
Zwischenzone	0.00	0.00	0.00	0.00	1.37
6 β -OH- Δ^4 -A	2.25	2.44	0.00	2.73	2.88
Δ^4 -A	90.11	84.19	82.26	92.97	84.20
16 α -OH- Δ^4 -A	0.02	0.00	3.43	0.53	0.00

Tab. 22: Verteilung der ^3H -Aktivität in den verschiedenen Fraktionen nach Inkubation von (4- ^{14}C)-Testosteron und (1,2- ^3H)- Δ^4 -Androstendion mit Magenschleimhaut einer Frau.

Ansätze mit Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten.

E Besprechung der Ergebnisse

Die Inkubationsversuche von Testosteron und Δ^4 -Androstendion mit quergestreifter Muskulatur des Erwachsenen ergaben keinen Hinweis auf einen Ab- oder Umbau von Testosteron. Selbst eine Umwandlung von Testosteron in Δ^4 -Androstendion, wie sie in fast allen bisher untersuchten Geweben von Mensch und Tier nachzuweisen war, fand nicht statt. Obwohl die Skelettmuskulatur unter dem anabolen Einfluß von Testosteron steht, wie der unterschiedliche Muskelbau von Knabe und Mann zeigt, und somit die quergestreifte Muskulatur als "Erfolgsorgan" von Testosteron betrachtet werden könnte, wurde Testosteron nicht in 5α -Dihydrotestosteron wie in den "Erfolgsorganen" Prostata und Haut umgewandelt. Dieser Befund stimmt überein mit den Ergebnissen von KELCH et al., (20), die im Muskelgewebe des Erwachsenen zwar eine geringe Umwandlung von Testosteron in Δ^4 -Androstendion, nicht aber in 5α -Dihydrotestosteron nachweisen konnten. Untersuchungen mit quergestreiftem Muskelgewebe verschiedener Tierspezies (16) haben ebenfalls keine Umwandlung von Testosteron in 5α -hydrierte Verbindungen ergeben. Auch konnten im Muskelgewebe der Ratte keine Rezeptoren für Testosteron oder für 5α -Dihydrotestosteron, wie sie im Prostatagewebe der Ratte gefunden wurden, nachgewiesen werden (16). Auffällig ist, daß Testosteron im fetalen menschlichen Muskelgewebe zu einem hohen Prozentsatz in Δ^4 -Androstendion und zu einem geringen Prozentsatz auch in 5α -Dihydrotestosteron umgewandelt wird (20). Der erhöhte Abbau von Testosteron im fetalen Muskelgewebe könnte seine Ursache in der erhöhten Wachstumsrate von fetalem Gewebe gegenüber ausgereiftem Gewebe haben (20). Der Nachweis von 5α -Dihydrotestosteron im fetalen Muskelgewebe spricht dafür, daß 5α -Dihydrotestosteron im fetalen Muskelgewebe über eine Stimulierung der RNA-Synthese einen proliferativen Effekt auf das Zellwachstum ausübt (1, 38).

In Schnitten menschlichen Nierengewebes wurde Testosteron in geringem Ausmaß in das biologisch wesentlich weniger aktive Δ^4 -Androstendion umgewandelt, überwiegend entstand

Testosteron aus Δ^4 -Androstendion. Bei in vivo Versuchen mit Nierengewebe von Ratten, wobei das Nierengewebe 10 min nach intraperitonäaler Injektion von radioaktiv markiertem Testosteron untersucht wurde (10), war Testosteron ebenfalls in Δ^4 -Androstendion umgewandelt worden. Zusätzlich waren von diesen Autoren bei den gleichen Versuchen biologisch inaktive 5 β -hydrierte Verbindungen, nämlich 5 β ,3 α -Androstendiol und 5 β ,3 α -Androsteron, sowie das biologisch aktive 5 α ,3 α - und 5 α ,3 β -Androstandiol als Metaboliten von Testosteron gefunden worden. 5 α -Dihydrotestosteron, das von anderen Untersuchern (36) in Zellkernen von Ratten- nieren als Testosteronmetabolit beschrieben wurde, konnte dagegen von EL ATTAR and DIRSCHERL (10) nicht nachgewiesen werden.

Obwohl einzelne Befunde bei tierischem Nierengewebe darauf hindeuten, daß in der Niere ähnlich wie in "Erfolgsorganen" von Testosteron biologisch aktive 5 α -hydrierte Verbindungen entstehen, konnte eine solche Reaktion im menschlichen Nierengewebe unter den angegebenen Versuchsbedingungen nicht nachgewiesen werden.

Anders als im Nierengewebe wurde in Schnitten menschlichen Lungengewebes Testosteron überwiegend in Δ^4 -Androstendion, weniger dagegen Δ^4 -Androstendion in Testosteron umgewandelt. Dieser Befund entspricht den Ergebnissen von BREUER et al., (4). Diese Autoren hatten allerdings Testosteron mit pathologisch verändertem Lungengewebe (Plattenepithelkarzinom) inkubiert, so daß ein Vergleich der Ergebnisse nur bedingt möglich ist. Auch BREUER et al., (4) hatten keine Umwandlung von Testosteron in 5 α - oder 5 β -hydrierte Verbindungen nachweisen können. Somit scheint in der Lunge Testosteron nur zu Δ^4 -Androstendion abgebaut zu werden.

Auch in Schnitten von menschlicher Magenschleimhaut konnte, wie im Lungengewebe, v.a. eine Umwandlung von Testosteron zu Δ^4 -Androstendion, weniger von Δ^4 -Androstendion zu Testosteron nachgewiesen werden. 5 α -hydrierte Verbindungen, wie

sie in der Mikrosomenfraktion von gastrointestinalem Gewebe der Ratte beschrieben wurden (18) entstanden nicht.

Insgesamt konnte gezeigt werden, daß im Nieren-, Lungen- und Magenschleimhautgewebe des Menschen in vitro mit Hilfe der 17 β -Hydroxy-Oxydoreduktase Testosteron in Δ^4 -Androstendion und umgekehrt umgewandelt wird. Im Lungen- und Magenschleimhautgewebe überwog dabei die Reaktion von Testosteron zu Δ^4 -Androstendion, während im Nierengewebe das Reaktionsgleichgewicht zu Gunsten von Testosteron verschoben war.

Im quergestreiften Muskelgewebe fand kein nachweisbarer Testosteronstoffwechsel statt.

Eine Umwandlung von Testosteron in biologisch aktive 5 α -hydrierte Verbindungen, insbesondere in 5 α -Dihydrotestosteron, wie sie in "Erfolgsorganen" von Testosteron vorwiegend entstehen, war nicht nachzuweisen.

Auch wurde Testosteron in den untersuchten Geweben nicht in biologisch inaktive oder wenig aktive 5 β -hydrierte Verbindungen abgebaut, wie sie vorwiegend im Lebergewebe des Menschen beschrieben wurden. Es konnte jedoch gezeigt werden, daß beim Menschen in vitro nicht nur die Leber und die sogenannten Erfolgsorgane von Testosteron am Testosteronstoffwechsel beteiligt sind, sondern auch verschiedene andere extrahepatische Gewebe.

F Zusammenfassung

Der Stoffwechsel von Testosteron wurde in vitro in quergestreifter Muskulatur, Niere, Lunge und Magenschleimhaut des Menschen untersucht. Gewebeschnitte wurden mit oder ohne Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten mit (4-¹⁴C)-Testosteron und (1,2-³H)- Δ^4 -Androstendion inkubiert. Die zugesetzten radioaktiv markierten Androgene und die entstandenen Metaboliten wurden aus Gewebe und Inkubationsmedium extrahiert, vorgeeignet und gaschromatographisch aufgetrennt. In Niere, Lunge und Magenschleimhaut wurde Testosteron in Δ^4 -Androstendion und umgekehrt auch Δ^4 -Androstendion in Testosteron umgewandelt. Bei Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten zum Inkubationsmedium wurde Testosteron vermehrt abgebaut. 5 α -oder 5 β -hydrierte Verbindungen entstanden nicht. Im Skelettmuskelgewebe konnte auch nach Zugabe von wasserstoffübertragenden Kofermenten kein Androgenstoffwechsel nachgewiesen werden. In Niere, Lunge und Magenschleimhaut, nicht aber in der quergestreiften Muskulatur, ist demnach eine 17 β -Hydroxy-C₁₉-Steroid-Oxydoreduktase vorhanden.

G Literaturverzeichnis

- (1) ANDERSON, K.M. and S. LIAO: Selective retention of dihydrotestosterone in prostativ nuclei.
Nature 219, 277, 1968
- (2) BAULIEU, E.-E. and P. MAUVAIS-JARVIS: Studies on testosterone metabolism. II. Metabolism of testosterone-4-¹⁴C and androst-4-ene-3,17-dione-1,2-³H.
J.Biol.Chem. 239, 1578, 1964
- (3) BLAQUIER, J., FORCHIELLI, E. and R.I. DORFMAN: in vitro metabolism of androgens in whole human blood
Acta Endocrin. 55, 697, 1967
- (4) BREUER, H. L. NOCKE and I. PECHTHOLD: Stoffwechsel von Testosteron in normalen und neoplastischen Geweben des Menschen
Z.Vitamin., Hormon- u. Fermentforschung 10, 106, 1959/1960
- (5) CHAMBAZ, E.M., MAUME, G., MAUME, B. and E.C. HORNING: Silylation of steroids. Formation of enol trimethylsilyl ethers and oxysilylation products.
Anal. Letters 1, 749, 1968
- (6) DEMISCH, K. und W. STAIB: Der Testosteronstoffwechsel in der isoliert perfundierten Meerschweinchenleber.
Europ. J. Biochem. 7, 324, 1969a
- (7) DEMISCH, K. and W. STAIB: An improved method for isolation and identification of hydroxylated testosterone metabolites as trimethylsilyl ethers from biological material
Europ. J. Biochem. 9, 378, 1969b
- (8) DEUTSCH, W.: An improvement of Warburg's method for cutting tissue sclices for respiratory experiments
J. Physiol. 87, 56, 1936

- (9) EIK-NES, K.B. and E.C. HORNING: Gas Phase Chromatography of Steroids. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1968
- (10) EL-ATTAR, T. and DIRSCHERL, W.: The initial metabolism of 4-C¹⁴ Testosterone in the rat. IV. In the kidney, the testicle and the musculature Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem., 342/1-3 (156-160), 1965
- (11) ENGELHARDT, D., BERLETH, B., RAITH, L. and H.J. KARL: Transformation von Östrogenen und Androgenen durch Fettgewebe des Menschen in vitro. 15. Symp. Dtsch. Ges. Endokrin. 172, 1969
- (12) ENGELHARDT, D., WIEDEMANN, M. und H.J. KARL: Untersuchungen über den Stoffwechsel von Testosteron in der Haut des Menschen Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 76, Bd 879, J.F. Bergmann, München 1970
- (13) ENGELHARDT, D., EISENBURG J., UNTERBURGER P. und H.J. KARL: Untersuchungen über den Stoffwechsel von Testosteron und A⁴-Androstendion in der Leber des Menschen. Klin. Wschr. 49, 439, 1971
- (14) ENGELHARDT, D.: Hepatischer und extrahepatischer Stoffwechsel von Testosteron beim Menschen Habilitationsschrift, München, 1974
- (15) FLAMIGNI, C.A., W.P. COLLINS, E.N. KOULLAPIS and I.F. SOMMERVILLE: Formation and metabolism of testosterone in rat skin Endocrinology 88, 764, 1970
- (16) GLOYNA, R.E. and J.D. WILSON: A comparative study of the conversion of testosterone to 17 β -hydroxy-5 α -androstan-3-one (dihydrotestosterone) by prostate and epididymidis J. clin. Endocrin. 29, 970, 1969
- (17) GOMEZ, E.C., HSIA, S.L. and P. FROST: Cutaneous transformation of testosterone into 5 α -androstane-3 β ,17 β -diol J. Clin. Endocr. 34, 417, 1972

- (18) HARRI, M.P., HARTIALA, K., W. NIENSTEDT and H.A. SALMI:
Testosterone metabolism by gastrointestinal
microsomes
Acta Physiol.Scand. 79, 573, 1970
- (19) HENRICHS, H.R. und W.DIRSCHERL: In vitro Stoffwechsel
von 4-¹⁴C-Testosteron in Vesiculardrüsen
von Ratten.
Acta Endocrin. 62, 747, 1969
- (20) KELCH, R.P., LINDHOLM, U.P. and R.B. JAFFE: Testosterone
metabolism in target tissue: 2. Human fetal
and adult reproductive tissues, perineal skin
and skeletal muscle
J.Clin.Endocrin. 32, 449, 1971
- (21) KING, R.J.B., GORDON, J. and J.E. HELFENSTEIN:
The metabolism of Testosterone by tissue from
normal and neoplastic rat breast
J.Endocrin. 29, 103, 1964
- (22) LISBOA, B.P., I. DROSSE and H. BREUER: Stoffwechsel von
Testosteron in Leberschnitten des Menschen
Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem. 342, 123, 1965
- (23) LISBOA, B.P., GUSTAVSON, J.A. and J. SJÖVALL: Studies
on the metabolism of C₁₉-steroids in rat liver
microsomes.
Europ.J.Biochem. 4, 496, 1968
- (24) NORTHUTT, R.C., D.P. ISLAND and G.W. LIDDLE: An explanation
for the target organ unresponsiveness to test-
osterone in the testicular feminization syndrome
J. Clin.Endocrin. 29, 422, 1969
- (25) OKITA, G.T., J.J. KARABA, F. RICHARDSON and G.V. LEROY:
Assaying compounds containing ³H and ¹⁴C
Nucleonics 15, 111, 1957
- (26) SAMUELS, L.T., M.L.SWEAT, B.H. LEVEDAHL, M.M. POTTNER and
M.L. HELMREICH: Metabolism of Testosterone
by livers of different species of animals
J.biol.Chem. 183, 231, 1950
- (27) SCHRIEFERS, H.W. CREMER and M.OTTO: Sex difference in
Testosterone metabolism of the perfused rat liver
Hoppe Seyler's Z.Physiol.Chem. 348, 183, 1967

- (28) SEI-ITSU, M. and B. TAMAOKI: Metabolism of progesterone and testosterone by chick embryo cartilage in vitro
Biochem.Biophys. Acta 137, 347, 1967
- (29) SHIMAZAKI, J., KURIHARA, H., ITO, Y. and K. SHIDA: Metabolism of testosterone in muscular tissue
Gunma J.Med.Sci. 14, 100, 1965
- (30) SHOLITON, L.J., MARNELL, R.T. and E.E. WERK: Metabolism of testosterone-4-¹⁴C by rat brain homogenates and subcellular fractions.
Steroids 8, 265, 1966
- (31) SIITERI, P.K., and J.D. WILSON: Dihydrotestosterone in prostatic hypertrophy. I.The formation and content of dihydrotestosterone in the hypertrophic prostate of man
J.clin.Invest. 49, 1737, 1970
- (32) STYLIANOU, M.E., FORCHIELLI, E. and R.I. DORFMANN: The metabolism of 4-¹⁴C-Testosterone in rat testis homogenate.
J.Biol.Chem. 236, 1318, 1961b
- (33) STYLIANOU, M.E., E. FORCHIELLI, M. TUMMILLO and R.I. DORFMANN: Metabolism in vitro of 4-¹⁴C-testosterone by a human liver homogenate
J.Biol.Chem. 236, No. 3. 692, 1961 a
- (34) THOMAS, Z.T. and R.I. DORFMAN: Metabolism of androst-4-ene-3,17-dione-4-¹⁴C by rabbit skeletal muscle strips
J-biol.Chem. 762, 239, 1964
- (35) VAN DER MOLEN, H.J., and D. GROEN: Intervonversion of progesterone and 20 α -dihydroprogesterone and of testosterone in vitro by blood and erythrocytes
Acta Endocrin. 58, 419, 1968
- (36) VERHOEVEN, G. and P.DE MOOR: Kinetic data on the formation of 17 β -hydroxy-5 α -androstan-3-one in renal nuclei from male and female rats
Endocrinology 91, 54, 1972

- (37) WIEDEMANN, M., L. RAITH, and H.J. KARL: Untersuchungen über die Adsorption von Steroiden an Florisil und Amberlite. Methode zur getrennten Bestimmung der Glucuronide und Sulfate von Androgenen Z.Anal.Chem. 252, 287, 1970
- (38) WILSON, J.D.: Recent studies on the mechanism of action of testosterone.
New Engl.J.Med. 287, 1284, 1972
- (39) WILSON, J.D. and J.D. WALKER: The conversion of testosterone to 5 α -androstan-17 β -ol-3-on (dihydrotestosterone) by skin slices of man J.Clin.Invest. 48, 371, 1969
- (40) YATES, F.E., A.L. HERBST, J. URQUHART: Sex difference rate of ring A reduction of Δ^4 -3-ketosteroids in vitro by rat liver
Endocrinology 63, 887, 1958

Herrn Prof. Dr. D. ENGELHARDT gilt mein Dank
für die Stellung des Themas und die verständnisvolle
Unterstützung meiner Arbeit.

LEBENS LAUF

Ich, Heinz Zwerina, wurde am 30.06.1947 in München geboren.

Von 1953 bis 1957 besuchte ich die Volksschule in Gauting, anschließend das Realgymnasium in Starnberg, wo ich 1956 das Abitur ablegte.

1966 begann ich mit dem Studium der Anglistik und Germanistik an der Ludwig-Maximilians-Universität München, wechselte aber 1968 auf die Humanmedizin an der gleichen Universität über und legte 1975 das medizinische Staatsexamen ab.

Von 1975 bis 1977 arbeitete ich als Medizinalassistent und nach der Approbation als Assistenzarzt am Kreiskrankenhaus Roth.

Von 1977 bis 1978 leistete ich meinen Wehrdienst ab.

Seit November 1978 arbeite ich an der Pfalzlinik Landeck (Psychiatrisches Landeskrankenhaus).

